

FEINNADELASPIRATIONSBIOPSIE BEI NIERENALLOTRANSPLANTATEN

**Beobachtung der mononukleären
Inflammation unter immunsuppressiver
Therapie mit Ciclosporin
oder Antilymphozytenglobulin
im Hundemodell**

Hans-Ulrich Jarck



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung der
Ludwig Maximilians-Universität München
Direktor : Professor Dr. Dr. h.c. W. Brendel

FEINNADELASPIRATIONSBIOPSIE BEI NIERENALLOTRANSPLANTATEN

Beobachtung der mononukleären Inflammation
unter immunsuppressiver Therapie mit Ciclosporin
oder Antilymphozytenglobulin im Hundemodell

Inaugural Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Hans-Ulrich Jarck
aus Göttingen

München 1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. C. Hammer
Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. h.c. W. Breudel
Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 22.05.1986

MEINEN ELTERN

"Der bestimmte Irrtum ist stets ergiebiger und wahrhafter
als die unbestimmte Richtigkeit des Nichtssagenden."

Karl Jaspers

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1 E I N L E I T U N G	
<u>1.1 Allgemeines</u>	1
<u>1.2 Feinnadelaspirationszytologie</u>	2
<u>1.3 Ciclosporin</u>	3
1.3.1 Geschichte eines neuen Immunsuppressivums	3
1.3.2 Stand der tierexperimentellen Untersuchung zur Ciclosporin- Wirkung speziell auf Nierenallotransplantate	6
<u>1.4 Antilymphozytenglobulin</u>	8
2 V E R S U C H S A U F B A U	9
3 M A T E R I A L U N D M E T H O D E N	11
<u>3.1 Versuchstiere</u>	11
<u>3.2 Operation</u>	11
3.2.1 Vorbereitung zur Operation und Narkose	11
3.2.2 Intraoperative Infusionen und Medikamente	12
3.2.3 Operationstechnik	13
3.2.4 Postoperative Versorgung	15
<u>3.3 Immunsuppressiva : Präparation und Applikation</u>	16
3.3.1 Ciclosporin	16
3.3.2 Antilymphozytenglobulin	16
<u>3.4 Postoperative Untersuchungen</u>	16
3.4.1 Feinnadelaspirationsbiopsie	16
3.4.2 Blutentnahme	20

3.5	<u>Versuchsende</u>	21
3.5.1	Sektion	22
3.5.2	Proben für die Histopathologie	22
4	ERGEBNISSE	23
4.1	<u>Allgemeines</u>	23
4.1.1	Gewichtsentwicklung der Versuchstiere	23
4.1.2	Überlebenszeit	23
4.1.3	Todesursache	23
4.1.4	Verlust an Versuchstieren	24
4.1.5	Histopathologie der Nierentransplantate	25
4.2	<u>Basisimmunsuppression</u>	26
4.2.1	Ergebnisse im Vollblut	26
4.2.2	Ergebnisse im Serum	28
4.2.3	Feinnadelaspirationsbiopsie	29
4.3	<u>Kontinuierliche Betrachtung der drei Versuchsgruppen während Abstoßungskrisen</u>	31
4.3.1	Ergebnisse im Vollblut	32
4.3.2	Ergebnisse im Serum	32
4.3.3	Feinnadelaspirationsbiopsie	37
4.4	<u>Auf Abstoßungskrisen synchronisierte Betrachtung der drei Versuchsgruppen</u>	39
4.4.1	Ergebnisse im Vollblut	39
4.4.2	Ergebnisse im Serum : Nierenretentionsparameter	42
4.4.3	Feinnadelaspirationsbiopsie	43
4.4.4	Abstoßungstherapie	47
5	DISKUSSION	49
5.1	<u>ALLGEMEINES</u>	49
5.1.1	Historie	49
5.1.2	Versuchstiere	51

5.1.3 Allgemeiner Versuchsverlauf	51
5.1.4 Operationstechnische Konsequenzen	53
5.1.5 Feinnadelaspirationszytologie	54
5.1.6 Histopathologie der Nierentransplantate	58
<u>5.2 Basisimmunsuppression</u>	60
5.2.1 Peripheres Blutbild	60
5.2.2 Serumanalyse	61
5.2.3 Feinnadelaspirationszytologie	63
<u>5.3 Kontinuierliche Betrachtung der drei Versuchsgruppen während Abstoßungskrisen</u>	66
5.3.1 Peripheres Blutbild	66
5.3.2 Serumanalyse	68
5.3.3 Feinnadelaspirationszytologie	68
<u>5.4 Auf Abstoßungskrisen synchronisierte Betrachtung der drei Versuchsgruppen</u>	69
5.4.1 Peripheres Blutbild	69
5.4.2 Nierenretentionsparameter	70
5.4.3 Resultate der Feinnadelaspirationszytologie	72
6 ZUSAMMENFASSUNG	75
<u>6.1 Literatur</u>	75
<u>6.2 Feinnadelaspirationszytologie</u>	75
<u>6.3 Ciclosporin</u>	76
<u>6.4 Antilymphozytenglobulin</u>	77
<u>6.5 Schlußfolgerungen</u>	78
7 LITERATURLISTE	79
8 ANHANG	90
9 LEBENS LAUF	91

VERWENDETE ABKÜRZUNGEN

A.	- Arteria
Abb.	- Abbildung
ALG	- Antilymphozytenglobulin
AR	- Abstoßungsreaktion
AZ	- Allgemeinzustand
RA	- Blutausstrich
CsA	- Ciclosporin
Diff.B.B.	- Differentialblutbild
FNAB	- Feinnadelaspirationsbiopsie
FNAZ	- Feinnadelaspirationszytologie
Gr.	- Gruppe
Hb	- Hämoglobin
HLA	- Human Leukocyte Antigen
HK	- Hämatokrit
HTL	- Helfer-T-Lymphozyten
I.E.	- Internationale Einheiten
IL	- Interleukin
Kap.	- Kapitel
KG	- Körpergewicht
KM	- Kulturmedium
n	- Anzahl der Fälle
Op	- Operation
Tab.	- Tabelle
TAZ	- Transplantataspirationszytologie
TP	- Transplantat
V	- Versuch
V.	- Vena
VE	- Versuchsende
ZTL	- Zytotoxische-T-Lymphozyten

ZEICHENERKLÄRUNG :

$x > y$: x größer y

$x < y$: x kleiner y

$x \uparrow$: x erhöht

$x \downarrow$: x erniedrigt

x / y : x plus minus y

*(..) : Literaturstelle

1 EINLEITUNG

1.1 Allgemeines

Zehntausende von Patienten allein in Europa mit Nierenversagen im Endstadium können nur mit Hilfe der Dialyse am Leben gehalten werden *(48). Dieses zeitaufwendige und sehr teure maschinelle Verfahren bestimmt zunehmend den Alltag der Betroffenen. Ausschließlich die Implantation einer fremden Niere eröffnet dialysepflichtigen Menschen die Chance zu einem Leben ohne Maschine.

Leider gibt es bei Organtransplantationen immer noch große immunologische Probleme. Da es sich bei Transplantaten in den seltensten Fällen (eineiige Zwillinge) um genetisch identisches Gewebe handelt, kommt es zu Abstoßungsreaktionen. Das Abwehrsystem des Körpers richtet sich gegen das als fremd erkannte Gewebe. Um die Transplantatfunktion zu erhalten, müssen diese Abstoßungsreaktionen unterdrückt werden. Dazu stehen verschiedene immunsuppressive Verfahren zur Verfügung:

1.

chemische/medikamentöse : Azathioprin *(50), Cyclophosphamid *(124), Prednisolon *(126)

2.

physikalische : lokale *(51), selektiv lymphatische *(112) oder systemische Röntgenbestrahlung *(99)

3.

biologische : polyklonale *(14) und neuerdings monoklonale Antikörper *(82) gegen Lymphozyten, Drainage des Ductus thoracicus *(121)

Das Problem der immunsuppressiven Therapie ist ihre mangelnde Spezifität *(77). Immunsuppressiva verhindern nicht nur die Transplantatabstoßung, sondern schwächen ebenso die Abwehr gegen Viren, Bakterien und Neoplasmen, oder beeinträchtigen sogar andere Organsysteme. Damit stellt die unumgängliche Immunsuppression des Transplantatempfängers eine Gratwanderung zwischen Transplantatverlust auf der einen und lebensgefährlichen Komplikationen auf der anderen Seite dar *(116).

Ein neues Immunsuppressivum, Ciclosporin (CsA) scheint eine gewisse

Abhilfe zu bringen, in dem es selektiv auf die Funktion bestimmter Lymphozyten wirkt *(12,17).

Eine andere Schwierigkeit ist die Kontrolle der Transplantatfunktion und die Überwachung der gegen das Transplantat gerichteten Abstoßungsvorgänge. Dazu sind eine Vielzahl von Methoden entwickelt worden, die unterschiedlich belastend und aussagekräftig sind. Bis auf die sehr invasive Stanzbiopsie der Nieren haben sie alle eines gemeinsam, sie geben nur indirekte Hinweise auf das Geschehen im Transplantat selbst *(119).

1.2 Feinnadelaspirationszytologie

Eine bisher wenig verbreitete Methode zur Überwachung von Nierentransplantaten ist die Feinnadelaspirationsbiopsie (FNAB). Sie wurde 1968 erstmals von Pasternak in diesem Zusammenhang in der Literatur erwähnt *(91,92) und später von P.Häyry *(60) und E.v.Willebrand *(177) weiterentwickelt. In Kombination mit der Transplantataspirationszytologie (TAZ) erlaubt sie als derzeit einzige Methode innerhalb von zwei Stunden und fast frei von Nebenwirkungen einen Einblick in die zellulären Vorgänge im Nierentransplantat. Bei über 700 Feinnadelbiopsien stellten C.Hammer et al *(56) lediglich wenige Fälle von Mikrohamaturien fest. Demgegenüber wird die Indikation der aussagekräftigeren Stanzbiopsie durch beinahe 4 % Komplikationen (vor allem Makrohamaturien) erheblich eingeschränkt *(132) und bleibt damit besonderen Fragestellungen vorbehalten. Trotzdem kann und soll die Stanzbiopsie nicht durch die FNAB ersetzt werden *(59).

Die FNAB ist nahezu atraumatisch, so daß sie ohne Schaden für den Patienten oder dessen Transplantat täglich bis stündlich wiederholt werden kann *(56). Bei der FNAB werden keine geschlossenen Gewebsverbände, sondern nur ein Aspirat einzelner Zellen gewonnen *(59). Es handelt sich dabei um Blutbestandteile, Parenchymzellen und mononukleäre Zellen aus dem Interstitium des Transplantates. Aus der zytologischen Analyse dieses Aspirates gewinnt der Untersucher Erkenntnisse über den Zustand des Transplantates sowie Art und prozentuale Zusammensetzung der das Transplantat infiltrierenden immunkompetenten Zellen. Damit können Grad, Heftigkeit und Verlauf von Abstoßungsreaktionen regelmäßig beurteilt und

von anderen die Transplantatfunktion einschränkenden Zuständen wie Virusinfekt, akute Tubulusnekrose, Thrombose oder toxischen Schäden abgegrenzt werden *(56). Der Forschung steht mit der Feinnadelaspirationszytologie (FNAZ) eine ideale Methode zur Verfügung, die Vorgänge der zellulären Transplantatabstoßung zu beobachten und die Wirkung der einzelnen Immunsuppressiva auf diese Form der Abstoßung exakt zu analysieren. Ziel der hier vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung von Ciclosporin als Basisimmunsuppressivum, sowie von CsA und ALG bei der Suppression von Abstoßungskrisen im gleichen Versuchsmodell *(75).

Zur Feinnadelaspirationszytologie selbst ergeben sich im Rahmen dieser Versuche folgende Fragen : Zeigt die FNAZ ?

1. frühzeitig den Beginn zellulärer Abstoßungsreaktionen
2. zuverlässig das Ende der zellulären Abstoßungsreaktion ?
3. ALG oder Ciclosporin bedingte toxische Zellschäden der Nieren ?
4. methodisch bedingte Nebenwirkungen ?

1.3 Ciclosporin

1.3.1 Geschichte eines neuen Immunsuppressivums

Die Geschichte dieser Substanz geht zurück auf das Jahr 1970 *(13). Auf der Suche nach neuen pharmakologisch wirksamen Substanzen isolierte die Mikrobiologische Abteilung der Firma Sandoz erstmals zwei neue Pilzarten (Fungi imperfekti) aus Staubproben. Die Proben stammten aus Wisconsin (USA) und vom Hardanger Vidde (Norwegen). Beide Pilze synthetisieren in ihrem Myzel Cyclosporine, die eine antimykotische Wirkung zeigen. Da der eine Pilz (*Cylindrocarpon lucidum* Booth) sich nur in Oberflächenkulturen vermehrte, wurde er später verworfen. Der andere Pilz, dessen korrekter Name "*Tolypocladium inflatum* Gams" lautet, wächst auch in Rührkulturen und ist damit für die Produktion besser geeignet.

Die den synthetisierten Cyclosporinen nachgewiesene schmale antimykotische Aktivität richtet sich überwiegend gegen klinisch unbedeutende Pilze, ist allerdings kombiniert mit einer ungewöhnlich niedrigen Toxizität. Als Wirkmechanismus vermutete man eine Hemmung der Chitinsynthese

in den Zellwänden sensibler Organismen *(27).

1971 wurde die Substanz in ein pharmakologisches Screening-Programm aufgenommen. Dabei stellte J.F.Borel 1972 erstmals die immunsuppressive Wirkung der Substanz bei Nagetieren in vitro und in vivo fest. Diese war nicht mit einer generellen zytostatischen Aktivität verbunden *(10,11).

1973 gelang Rüeggler die Reindarstellung der Substanz Ciclosporin *(105) und Dreyfuss ihre Produktion in Kulturen *(27). Ab Februar 1974 stand reines Ciclosporin für pharmakologische Untersuchungen zur Verfügung.

Die genaue Strukturanalyse gelang Petcher und Rüeggler 1975 *(93). Durch Massenspektrometrie wurde die Summenformel $C_{34}H_{61}NO_{12}$ errechnet. Das Molekulargewicht von Ciclosporin beträgt 1202,6. Durch hydrolytische Spaltung wurde Ciclosporin (CsA) in 11 Aminosäuren zerlegt, darunter eine bisher unbekannte C9 Aminosäure. Die genaue Strukturformel wurde durch eine Röntgenspektroalanalyse eines Jodderivates aufgedeckt. Ciclosporin ist ein Ring aus 10 bekannten aliphatischen Aminosäuren und einer neuen C9 Aminosäure in Position 1 (siehe Abb.1). Die Tatsache, daß sieben der Aminosäuren N-methyliert sind, erklärt die Resistenz des Polypeptids gegen den pH und die Enzyme des Verdauungstraktes. Das elektrisch neutrale Molekül ist gut löslich in Fetten und organischen Lösungsmitteln. In Aceton gelöstes CsA kristallisiert bei -15°C, der Schmelzpunkt der Kristalle liegt bei 150°C *(45).

Im Jahr 1980 gelang Wenger die stereospezifische Synthese der neuen N-methylierten-C9-Aminosäure, sowie des kompletten Peptids Ciclosporin *(125).

Beim Frühjahrstreffen der Britischen Gesellschaft für Immunologie 1976 veröffentlichte J.F.Borel erstmals tierexperimentelle Ergebnisse über CsA *(11), die wie folgt zusammengefaßt werden können:

Ciclosporin wirkt selektiv und reversibel auf Lymphozyten, vor allem T-Helfer Zellen. Es hemmt die Induktionsphase der Proliferation lymphatischer Zellen. Ciclosporin hat eine suppressive Wirkung auf die humorale und zellvermittelte Immunität, sowie auf chronische, nicht aber akut entzündliche Reaktionen. Diese Eigenschaften sind bei allen getesteten Spezies (Maus, Ratte, Meerschwein, Kaninchen und Affe) nachweisbar. Es ist im immunsuppressiven Dosishereich weder cytotoxisch, noch myelotoxisch und hat auch keinen antimittotischen Effekt.

Diese erstaunlichen Schlußfolgerungen stießen auf großes Interesse bei

D.J.G.White, einem Mitglied der Arbeitsgruppe um R.Y.Calne in Cambridge. Er initiierte die ersten tierexperimentellen Untersuchungen der Substanz auf "neutralem" Boden. Auch die Cambridge Gruppe hatte großen Erfolg in verschiedenen Transplantationsmodellen. Die Veröffentlichungen ihrer beeindruckenden tierexperimentellen Ergebnisse von 1977-79 riefen weltweites Interesse hervor *(16).

Zur gleichen Zeit wurde die Droge bei Sandoz für die klinische Phase A vorgeschlagen. Bei ersten Selbstversuchen kam es nach oraler Applikation zu keiner nennenswerten Resorption des Peptids, was mit dem hydrophoben Charakter des Moleküls erklärt wurde. Dieses galenische Problem konnte befriedigend gelöst werden, nachdem das Medikament auf Vorschlag von H.Wagner in reinem Olivenöl gelöst wurde *(13). Dadurch ergaben sich nach oraler Applikation zufriedenstellende Blutspiegel. Später wurden eine Trinklösung und zwei injizierbare Präparate entwickelt.

1978 behandelte R.Y.Calne die ersten Patienten mit inkompatiblen Leichennierentransplantaten *(17) und R.Powles die ersten Patienten nach Knochenmarkstransplantationen mit CsA *(98). Dabei wurde der starke immunsuppressive Effekt der Droge erstmals auch beim Menschen nachgewiesen. Der erfolgreiche Einsatz bei Leber- und Pankreasallotransplantaten *(18) folgte ein Jahr später (Calne et al.).

Bedauerlicherweise war die hervorragende immunsuppressive Potenz der neuen Droge im klinischen Gebrauch von erheblichen Nebenwirkungen begleitet, die allerdings überwiegend dosisabhängig und reversibel waren *(53). Nephrotoxizität mit Kreatinin- und Harnstoffanstiegen und Hepato-toxizität mit Transaminasen- und Billirubinerhöhung sind wohl die wichtigsten. Außerdem kam es gelegentlich zu Gingivahyperplasie, Hypertrichosis und Tremor. Bei Kombination von CsA mit anderen Immunsuppressiva traten gehäuft tödliche Infektionen und Lymphome auf.

Es sind diese Nebenwirkungen, die den Einsatz der Droge bei rheumatoider Arthritis *(65) und schwerer psoriatischer Arthropathie *(89) sicher begrenzen werden, trotz der nachweislich guten bis sehr guten Wirksamkeit bei Dauerapplikation.

1.3.2 Stand der tierexperimentellen Untersuchung zur Ciclosporin-Wirkung speziell auf Nierentransplantate

Über gute Erfolge mit CsA zur Prävention von Abstoßungsreaktionen gegen Hundenierenallotransplantate *(10) berichteten erstmals Calne und White 1977. Bei ihren Versuchen überlebten sogar einige Hunde das Absetzen des Immunsuppressivums für längere Zeit. Biopsien der Nierentransplantate zeigten bei normaler Transplantatfunktion während der gesamten Versuchszeit perivaskuläre Infiltrate von mononukleären Zellen.

Die Gruppe von Homann stellte fest, daß es nach Absetzen der CsA-Immunsuppression regelmäßig unmittelbar zur Abstoßung der Transplantate kam. Bei ihnen erwies sich eine Dauerbehandlung mit 20 mg/kg als erfolgreich *(69).

Den meisten Publikationen über Nierenallotransplantate lagen Versuche mit Ratten (Homann et al. und Simms et al.) oder Kaninchen (Green et al., Dunn et al.) zugrunde.

Nach 14-tägiger CsA-Therapie fand Homann regelmäßig Transplantatüberlebenszeiten von mehr als 100 Tagen *(68). Wurde diesen Tieren ein weiteres Transplantat von einem anderen Spender eingepflanzt, wurde dies sofort abgestoßen. Daraus schloß man auf eine spenderspezifische Immuntoleranz *(68). Des weiteren stellte diese Arbeitsgruppe einen synergistischen Effekt von jeweils subklinischen Dosen von CsA und ALG fest *(70). Simms beobachtete bei höheren CsA-Dosen nephrotoxische Erscheinungen bei Iso- und Allotransplantaten *(111). Es kam zu erheblichen Kreatinin- und Harnstoffanstiegen und histologisch erkannte man Tubulusdegenerationen und intrazelluläre Mikroablagerungen. Außerdem gewann dieses Team interessante Erkenntnisse aus der Zweitverpflanzung von Langzeit-tolerierten Transplantaten nach CsA-Therapie. Wurden die Transplantate in ein anderes Tier des gleichen Stammes gepflanzt, wurden sie auch von diesem toleriert, wurden sie in ein Tier vom Spenderstamm gepflanzt, bildeten diese Antikörper gegen den Empfängerstamm *(111).

Bei Kaninchen stellten Green et al. ebenfalls lange Allotransplantatüberlebenszeiten nach 3-4 wöchiger CsA-Behandlung fest *(41). Weitere Zweit-Transplantate (Haut oder Niere) vom gleichen Spender wurden in dieser Zeit in 95 % der Fälle ebenfalls angenommen, während Zweit-Transplantate von dritten Spendern jeweils akut abgestoßen wurden. Zu

allen Zeiten waren in den Allotransplantaten mononukleäre Infiltrate perivaskulär nachweisbar, vor allem an der Mark-Rinden-Grenze *(42).

Dunn et al. fanden bei CsA Dauertherapie weder Zeichen der Nephrotoxizität, noch eine mononukleäre Inflammation *(29). Wurden die geplanten Empfänger bis sieben Tage vor der Transplantation (und dann nicht mehr) mit CsA behandelt, zeigte sich ebenfalls eine Verlängerung der Transplantatfunktionszeit *(30). Dies wurde als allgemeine Immuntoleranz gedeutet *(28).

Nierenxenotransplantate werden bei konkordanten Paaren (Hase, Kaninchen) durch CsA signifikant vor Abstoßungskrisen geschützt *(44), während CsA bei diskordanten Xenotransplantaten (z.B. Kaninchen, Katze) ohne Effekt bleibt *(43).

Von der großen Zahl an Publikationen über erfolgreiche CsA-Anwendung bei anderen Allotransplantaten (Haut *(11), Pankreas *(19), Herz *(45), Leber *(18), Cornea *(24), Knochenmark *(124)) sei hier nur noch auf zwei interessante Erkenntnisse der Stanford-Gruppe hingewiesen. Sie transplantierten Herz und Herz/Lunge kombiniert bei Affen. Die Tiere wurden mit CsA allein oder zusätzlich mit Azathioprin und Methylprednisolon behandelt. Dabei wurde festgestellt, daß perivaskuläre Infiltrate mononukleärer Zellen nur in den Biopsien der Solo-Herztransplantate, nicht aber in denen der kombinierten Transplantate nachweisbar waren *(100). Die gleichzeitige Applikation von CsA mit anderen Immunsuppressiva führte zu einem erheblichen Anstieg der Infektanfälligkeit und vielen Fällen von ausgedehnten Lymphomen *(7).

Mit der vorliegenden Arbeit sollen nun folgende Fragen zur CsA-Wirkung am Modell der Hundenierenallotransplantate geklärt werden.

1.

Induziert CsA eine Immuntoleranz ?

2.

Wirkt CsA in Abstoßungsreaktionen immunsuppressiv ?

3.

Gibt es Hinweise für eine nephrotoxische Wirkung von CsA ?

4.

Wie wirkt CsA auf die mononukleäre Inflammation unter den

- Bedingungen der a) Basistherapie ?
 b) zellulären Abstoßungskrise ?

5.

Zeigen sich unter Ciclosporin Veränderungen des Blutbildes, der Nierenretentionsparameter oder der Serumelektrolyte ?

1.4 Antilymphozytenglobulin

Antilymphozytenglobulin (ALG) ist ein schon lange bewährtes *(14), wenn auch immer wieder umstrittenes Medikament *(40,52) zur Unterdrückung zellulärer Immunreaktionen. Seiner Anwendung liegt die Erkenntnis über die zentrale Bedeutung von Lymphozyten bei immunologischen Vorgängen zu Grunde. Bei Organtransplantationen wird es in erster Linie zur Suppression von Abstoßungsreaktionen gegen Allotransplantate eingesetzt *(84), aber auch zur Prävention solcher Krisen *(109).

Chemisch handelt es sich beim ALG um einen Eiweißkörper, der zur Immunglobulin-G-Fraktion gehört. Diese Antikörper werden gebildet, wenn ein Angehöriger einer Spezies (z.B. Pferd) mehrfach durch geeignete Applikation von gereinigten Lymphozyten einer anderen Spezies (z.B. Mensch) gegen diese Lymphozyten sensibilisiert wird. Durch moderne biochemische Verfahren läßt sich aus dem Serum des stimulierten Individuums (Antilymphozyten Serum) ALG isolieren und konzentrieren *(121). Um so besser das ALG gereinigt ist, um so geringer ist die Gefahr von Unverträglichkeitsreaktionen bei Applikation dieses Fremdproteins. Außerdem sollte der Quotient aus Lymphozytotoxizitätstiter und Hämagglutinationstiter möglichst niedrig sein.

Nachdem bereits Untersuchungen mit Hilfe der FNAZ zur Wirkung von ALG auf die mononukleäre Inflammation in Hundenierenallotransplantaten unter den Bedingungen der Basisimmunsuppression vorliegen *(8,9), sollte hier am gleichen Modell die Frage geklärt werden :

1.

Wie wirkt ALG auf die mononukleäre Inflammation bei zellulären Abstoßungskrisen ?

2.

Gibt es dabei Hinweise für eine nephrotoxische Wirkung ?

3.

Zeigen sich unter ALG Veränderungen des Blutbildes, der Nierenretentionsparameter oder der Serumelektrolyte ?

2 VERSUCHSAUFBAU

Zur Klärung der jeweils am Ende der Kapitel 1.2 - 1.4 an diese Arbeit gestellten Fragen wurde folgender Versuchsaufbau gewählt (Abb. 2).

1.

14 Hunde erhalten nach beidseitiger Nephrektomie ein Nierentransplantat von einem nicht verwandten Spender.

2.

Von jedem Transplantat wird während der gesamten Versuchszeit täglich morgens vor Applikation der Immunsuppressiva eine Feinnadelaspirationsbiopsie gewonnen.

3.

Alle Hunde erhalten 14 Tage lang täglich einmal CsA; Beginn 2 Stunden vor der Operation. Die tägliche Dosis von 20 mg/kgKG wird in Olivenöl gelöst und oral verabreicht.

4.

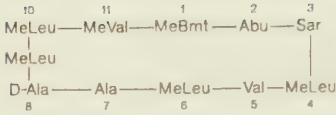
Nach 14 Tagen werden die Hunde randomisiert drei Gruppen zugeteilt. In Gruppe I (n=4) werden Abstoßungskrisen nicht behandelt, in Gruppe II (n=5) mit ALG und in Gruppe III (n=5) mit CsA.

5.

Die Abstoßungstherapie wird ausschließlich nach den Ergebnissen der FNAZ gesteuert. Beginn der Therapie bei einem KI $>7,5$ und Ende bei KI $< 3,5$.

6.

Die Dosis für die Abstoßungstherapie beträgt für beide Immunsuppressiva 20 mg/kgKG und wird einmal täglich verabreicht; ALG intravenös und CsA oral.



Bmt = (4R)-4-[(E)-2-butenyl]-4-L-Threonin

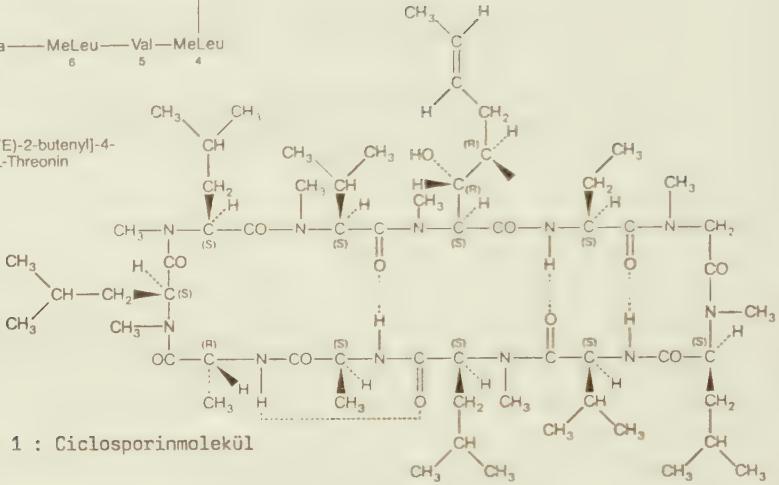


Abbildung 1 : Ciclosporinmolekül

DOSIS :

CsA 20 mg/kg oral

ALG 20 mg/kg i.v.

ABSTOSSUNG

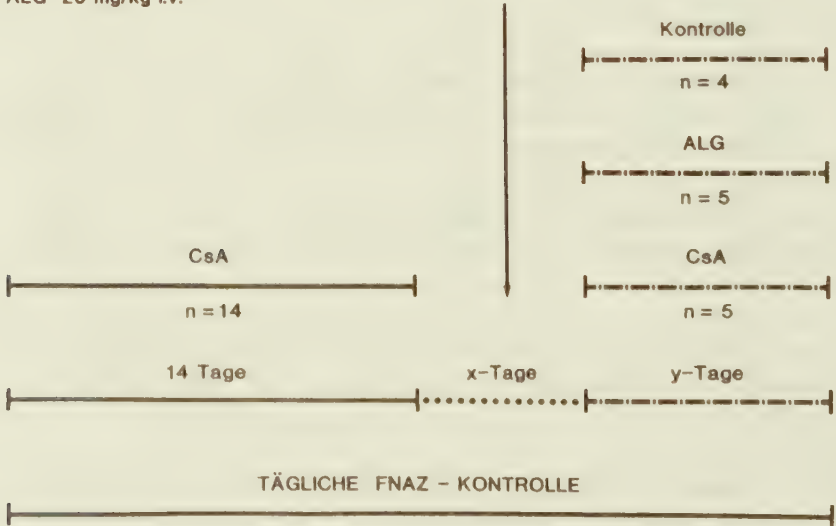


Abbildung. 2 : Versuchsaufbau

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Versuchstiere

Als Versuchstiere für 14 allogene Nierentransplantationen dienten Bastardhunde beiderlei Geschlechts. Das Gewicht der Spender lag zwischen 16 und 31 kg ($G = 24 / 4 \text{ kg}$), das der Empfänger bei 16 bis 25 kg ($G = 19 / 3 \text{ kg}$).

Die Quarantänezeit dauerte mindestens 1 Woche. Alle Tiere wurden 1 bis 2 Wochen vor Versuchsbeginn gegen Staupe immunisiert¹⁾ und antihelmentisch²⁾ behandelt. Um das Aufflammen latenter Infekte zu vermeiden, sollte die Leukozytenzahl im Blut weniger als $15000/\text{mm}^3$ betragen.

Die Hunde wurden in Einzelboxen gehalten und hatten 1 bis 2 mal täglich³⁾ Auslauf. Ernährt wurden sie mit einem Gemisch aus Hundefertigfutter und Nudeln oder Reis. Wasser stand ad libidum zur Verfügung (automatische Tränke).

3.2 Operation

3.2.1 Vorbereitung zur Operation und Narkose

Die Narkose war für Spender und Empfänger identisch. Die prä-operative Nahrungskarenz betrug 24 Stunden. Als Narkoseprämedikation erhielten die Tiere intramuskulär (i.m.) $0,5 \text{ mg}$ Atropin⁴⁾ und 4 mg/kg Körpergewicht (KG) eines Phenothiazinderivates⁵⁾ (Neuroleptikum). 15 Minuten später wurde den sedierten Hunden 1 mg/kgKG Levomethadonhydrochlorid⁶⁾ tief i.m. injiziert. Nach 5-10 Minuten erfolgte die endotracheale Intubation.

- 1) Candur^R SHL, Behringwerke AG, Marburg
- 2) Telmin^R, Jansen-Pharmazeutika, Bad Homburg
- 3) Pal^R - Hundefertigfutter, Effem GmbH, Verden
- 4) Atropinsulfat^R, Droben's GmbH, Berlin
- 5) Combelen^R, Bayer AG, Leverkusen
- 6) 1-Polamivet^R, Hoechst AG, Frankfurt/Main

Die Narkose wurde mit Halothan¹⁾ aufrechterhalten. Es wurde mittels eines Verdampfers den Atemgasen, Sauerstoff : Lachgas = 1 : 1,5 , zuge-mischt. Die Halothankonzentration betrug für die ersten 3 Minuten 3 Vol%, für 10 Minuten 1 Vol% und dann nach Bedarf 0,6 bis 0,8 Vol%. Die Atemfrequenz (14-16/min) und das Atemminutenvolumen (230-330ml/kgKG) richteten sich nach dem Gewicht der Hunde. Zur Ausleitung der Narkose wurde der Halothanverdampfer abgestellt und der Lachgasanteil durch Raumluft ersetzt. Nach 5 Minuten Sauerstoff : Raumluft = 1:1 , wurde in-termittierend mit Raumluft beatmet bis die Spontanatmung einsetzte. Atmeten die Tiere binnen 10 Minuten nicht spontan, wurde ihnen 0,5 mg Naloxon²⁾ i.v. verabreicht.

3.2.2 Intraoperative Infusionen und Medikamente

Den Spendern wurde während der Nierentransplantation 500 ml 0,9 %ige NaCl-Lösung³⁾ infundiert. Die Empfänger erhielten 500 ml Elektrolyt-Grundlösung⁴⁾ und zum Ende der Op 10 ml/kgKG Makrodex⁵⁾ zur Verbesserung der Mikrozirkulation. Dies galt als ausreichend bei normaler Op-Dauer (ca 2,5 Std), einem prä-operativen Hämatokrit (HK) von 40 % und einem Ge-wicht von 16 kg. Bei Überschreiten dieser Werte wurde das Infusionsvolu-men durch zusätzliche 5% Glukose-Lösung⁶⁾ oder 0,9 % NaCl-Lösung (HK↑ , Gewicht↑) entsprechend erhöht.

Mit der ersten Infusion erhielten die Empfänger 0,2 g/kgKG eines Penicil-lingemischs (Ampicillin : Oxacillin = 3:2)⁷⁾ . Vor Verschuß des Abdomens wurden 40 mg Gentamycin⁸⁾ intraperitoneal verteilt und im Anschluß an

- 1) Halothan^R , Hoechst AG, Frankfurt/Main
- 2) Narcanti^R , Winthrop GmbH, Neu Isenburg
- 3) Isotonische Kochsalzlösung^R , Fresenius, Bad Homburg
- 4) Tutofusin^R , Pfrimmer & Co GmbH, Erlangen
- 5) Rheomakrodex^R 10 % mit Sorbit 20 %, Knoll AG, Ludwigshafen
- 6) Glukose 5 %^R , Bayer AG, Leverkusen
- 7) Totocillin^R , Bayer AG, Leverkusen
- 8) Sulmycin^R , Byk-Essex GmbH, München

die Operation 40 mg i.m. injiziert.

Mit Eröffnung der Gefäße nach Anastomose erhielten die Empfänger 20 mg i.v. Furosemid¹⁾. Analgesie wurde in der ersten Nacht post Op durch Injektion von 0,2 ml/kgKG Baralgin²⁾ i.m. gewährleistet.

3.2.3 Operationstechnik

a) Zugang

Die Hunde wurden in Rückenlage operiert. Der Zugang zu den Nieren war für Spender und Empfänger identisch. Er erfolgte nach einem Median-schnitt durch die Linea alba transabdominal und transperitoneal.

b) Spender

Die Nieren wurden nach Eröffnung des Retroperitoneums vorsichtig aus ihrer Fettkapsel geschält, der Ureter schonend mobilisiert und dicht an der Harnblase ligiert und abgesetzt. Zuletzt wurden die Nierengefäße freipräpariert, möglichst lang abgeklemmt und mit der Gefäßschere durchschnitten; erst die Arteria renalis (A.ren.) dicht an der Aorta, dann die Vena renalis (V.ren.). Letztere wurde links an der Einmündungsstelle der V. testicularis, bzw. V. ovarica, rechts an der V. cava abgesetzt. Anschließend wurde die Niere sofort extracorporeal mit 500 ml 4 °C kalter Elektrolytgrundlösung mit 10000 I.E. Heparin³⁾ 10 Minuten lang perfundiert und bei dieser Temperatur gelagert. Nach Entnahme beider Nieren wurde ein künstlicher Herzstillstand durch i.v.-Injektion von 40 mval Kaliumchlorid⁴⁾ herbeigeführt.

c) Empfänger

Nach Eröffnung des Abdomens (siehe 3.2.3 a) wurden in der zu der zu implantierenden Niere kontralateralen Fossa iliaca die Vasa iliaca dargestellt und mobilisiert. Die Transplantatniere wurde zwischen Kompressen neben die Vasa iliaca gelegt und dort weiter mit Elektrolytlö-

1) Lasix^R, Hoechst AG, Frankfurt/M

2) Baralgin^R, Albert Roussel Pharma GmbH, Wiesbaden

3) Thrombophob^R, Nordmark-Werke GmbH, Hamburg

4) Kaliumchlorid-Lösung 7,46 %^R, Fresenius, Bad Homburg

sung gekühlt.

Die Nierengefäße wurden durch fortlaufende Nähte mit Prolene 6/0¹⁾ mit den Vasa iliaca anastomosiert, die V. ren. und V. iliaca communis End zu Seit, die A. ren. und die A. iliaca communis, bzw. externa End zu End. Der bei der Arteriennaht auftretende Kalibersprung war gering, wenn die Spender ca 20% schwerer als die Empfänger waren. Nach Freigabe der Arterie und Vene für den Blutstrom wurde die Nierenkühlung entfernt. Der Ureter wurde für die Implantation auf einer Länge von 1 cm einseitig gespalten. Blutungen an der Ureterschnittfläche wurden vorsichtig mit Strom oder feinen Ligaturen gestillt.

Bis Versuch 7 einschließlich wurde der Ureter durch eine kleine Öffnung in die Harnblase gezogen und von einer gegenüberliegenden Arbeitsöffnung aus mit 3 Stichen auf der Blasenmukosa fixiert. Alle Nähte an der Blase wurden als Einzelknopfnähte ausgeführt : Fixierung des Ureters an der Blasenmukosa und an der Durchtrittsstelle durch die Blasenwand mit Prolene 6/0, Verschluß der Arbeitsöffnung einschichtig mit Catgut 3/0¹⁾.

Ab Versuch 9 kam die Antirefluxplastik nach Lich-Gregoir zur Anwendung. Dazu wurde die Blasenmuskularis auf einer Länge von 2-3 cm bis zur Schleimhaut elektrisch durchtrennt und die Ränder mobilisiert. Distal wurde eine kleine Öffnung in die freigelegte Blasenmukosa geschnitten und darauf das gespaltene Ureterostium mit 6-9 Einzelknopfnähten mit Prolene 6/0 auf die Mukosa genäht. Am distalen Ende des Blasenschnitts wurde zusätzlich 1 Stich durch Blasen- und Uretermuskularis ausgeführt, um das Ureterlumen aufzurichten und ein Verdrehen zu verhindern. Die durchtrennte Blasenmuskularis wurde tunnelförmig über dem Ureter mit Catgut 3/0 Einzelknopfnähten verschlossen.

Anschließend wurden die Empfänger unter Schonung der Nebennieren beidseitig nephrektomiert. Nach Kontrolle der Transplantatanastomosen wurde das Transplantat endgültig gelagert. Bei Versuch 1-3 wurde die Niere auf das große Netz gelegt, welches distal am Peritoneum fixiert wurde. Die Niere lag somit isoliert vom Darm zwischen Omentum majus und Peritoneum. Ab Versuch 4 wurde dann bereits vor Implantation des Ureter versucht, die Niere in einer Tasche des Peritoneums in der Fossa iliaca retroperitoneal zu fixieren. War die Niere dazu zu groß, wurde sie mit Hilfe des

1) Ethicon GmbH, Hamburg

Ligamentum latum oder ähnlicher Strukturen dort neben den Gefäßen abgetrennt vom Darm fixiert.

Das Abdomen wurde schichtweise mit fortlaufenden Nähten (Vicril 4/1¹⁾ verschlossen : 1. Peritoneum, 2. Faszie, 3. bei Bedarf subcutanes Fettgewebe, 4. intracutane Hautnaht . Abschließend wurde ein atmungsaktiver antiseptischer Sprühverband²⁾ aufgetragen.

3.2.4 Postoperative Versorgung

Obligatorisch erhielten die Hunde an den ersten 3 Tagen post Op 0,2 g Totocillin/kgKG täglich in 500 ml 0,9 % NaCl-Lösung.

In folgenden Situationen wurde den Tieren zusätzlich gegeben :

- bei manifesten Infektionen:

Antibiotikakombinationen nach Antibiogramm i.v. oder i.m.

- bei Anstieg des HK, Flüssigkeitsverweigerung oder Oligurie:

Erhöhung des Infusionsvolumen durch zusätzliche 0,9 % NaCl-Lösung, Elektrolytgrundlösung oder Glukose 5 %-Lösung.

- bei Nahrungsverweigerung:

Versuch künstlicher Ernährung mit Lipofundin 10 % oder 20 %³⁾, Aminosäuren 10 %⁴⁾ und Glukose 50 %⁵⁾ durch 1-2 Infusionen / Tag.

- bei Harnstoffretention:

in seltenen Fällen 10-20 mg/Tag Furosemid i.v.

- bei Emesis (meist im Zusammenhang mit ALG- oder Antibiotikagabe):

bis zu 20 mg Metoclopramid⁶⁾ i.v. täglich

- bei Schmerzen:

0,5-1,0 g Metamizol⁷⁾ i.m. oder i.v.

1) Ethicon GmbH, Hamburg

2) Nobecutan^R-Spray, Astra Chemicals, Wedel/Holstein

3) Lipofundin^R S 10 %, S20 %, B.Braun, Melsungen

4) Aminosäuren 10 %^R, Pfrimmer & Co GmbH, Erlangen

5) Glukose 50 %^R, Delta Pharma GmbH, Pfullingen

6) Paspertin^R, Kali Chemie, Hannover

7) Novalgin^R, Hoechst, Frankfurt

3.3 Immunsuppressiva : Präparation und Applikation

3.3.1 Ciclosporin

Das als weißes Pulver vorliegende Ciclosporin wurde jeweils für 3 Tage im voraus in Olivenöl gelöst. Dazu wurde es abgewogen in das Öl gegeben (20 mg/ml), 3 Stunden bei 60°C gerührt und im Kühlschrank bei 8°C aufbewahrt. Die tägliche Dosis betrug 20 mg/kgKG, bzw. 1 ml der Lösung/kgKG. Sie wurde auf 20-25°C angewärmt und oral appliziert.

3.3.2 Antilymphozytenglobulin

Das Pferd-anti-Hund-Lymphozytenglobulin (50 mg/ml) war nach der Methode von Pichlmayr ^{*}(95) gewonnen worden. Es hatte einen Lymphozytotoxizitätstiter von 1 : 256 und einen Hämagglutinationstiter von 1 : 8. Gelagert und verarbeitet wurde es stets bei 4 °C. Vor Verdünnung mit 0,9 % NaCl-Lösung auf eine Konzentration von 20 mg/ml wurde es in einer Ultrazentrifuge ¹⁾ zwei Stunden mit 100000 g zentrifugiert, um Aggregate zu entfernen. Die Tagesdosis von ebenfalls 20 mg/kgKG bekamen die Hunde als Kurzinfusion, Temperatur ca 20 °C, Infusionszeit > 10 Minuten, ALG-Konzentration in der Infusion < 4 mg/ml.

3.4 Postoperative Untersuchungen

3.4.1 Feinnadelaspirationsbiopsie (FNAB)

Während der gesamten Versuchszeit wurden bei allen Transplantatträgern täglich FNAB der Nieren gewonnen, die erste bereits intraoperativ eine halbe bis eine Stunde nach Eröffnung der Gefäßanastomosen, die weiteren jeweils morgens vor Applikation der Immunsuppressiva.

1) Beckmann U 2, Rotor TI-60, 33000 U/min

a) Vorbereitung der FNAB

Eine 10 ml Einmal-Spritze wird in den Aluminium Handgriff¹⁾ geklemmt. Das Kulturmedium (KM)²⁾ wird auf 2 Reagenzgläser A und B verteilt; Glas "A" für Aspirat, Glas "B" für Blut. Aus dem Röhrchen "A" wird ein Teil in die 10 ml Spritze gesaugt, anschließend jegliche Luft aus der Spritze entfernt.

b) Durchführung der FNAB

Zur FNAB werden die Hunde mit 4-5 mg/kgKG Methohexital-Natrium³⁾ für 2-4 Minuten narkotisiert. Der Hund wird auf die der Niere kontralaterale Seite gelegt. Eine hinter dem Hund stehende Hilfsperson hält mit der einen Hand den oben liegenden Hinterlauf hoch. Mit der anderen Hand hebt sie die Niere etwas an und drängt sie damit gegen die Bauchdecke. In dieser Position ist das Transplantat gut palpabel; das darüber liegende Hautareal wird desinfiziert und die Biopsienadel perkutan in die Nierenrinde eingeführt. Beim Vorschieben der Nadel sind Cutis, Muskelfascie und Nierenkapsel als kurze Resistenzen zu spüren, im Gegensatz zu dem folgenden homogenen Organwiderstand der Niere. Eine Punktion des Nierenbeckens (Nierenbeckenschleimhaut ebenfalls als kurze Resistenz spürbar) muß vermieden werden. Daher sind die Nierenpole zu bevorzugen. Der Mandrin, der das Eindringen von transplantatfremden Zellen verhindert hat, wird herausgezogen. Die Nadel vibriert leicht pulssynchron. Erscheint jetzt im durchsichtigen Spritzenansatzkonus der Nadel Blut oder klare Flüssigkeit, so bedeutet dies, die Biopsienadel steckt in einem Blutgefäß, bzw. im Nierenbecken. In diesem Fall ist die Biopsie nicht verwertbar, die Nadel muß gezogen und die Biopsie mit einer neuen Nadel wiederholt werden. Bei "trockener" Nadel wird jetzt die vorbereitete Spritze auf den Nadelkonus gesteckt. Unter starkem Sog, gewährleistet durch den Cameco-Handgriff, und leichter Vibration wird die Nadel nun 2-3 mal 5 mm vor und zurück geschoben bis Aspirat im Nadelkonus erscheint. Dann wird die Nadel aus dem Organ entfernt und im Reagenzglas "A" einige Male mit dem KM durchgespült. Die Suspension bleibt dann im

1) Cameco^R - Handgriff, Empfenzeder, München

2) Hank^R -Lösung mit 50 IE Heparin/ml

3) Brevimytal^R Natrium, Lilly GmbH, Bad Homburg

Reagenzglas "A". In das Reagenzglas "B" werden zu dem KM 10 µl venöses Blut pipettiert.

c) Weiterverarbeitung der Proben

Jeweils 60-140 µl von Probe A und 60-100 µl von Probe B wurden in einer Cytozentrifuge¹⁾ bei 500 U/min 6 Minuten lang zentrifugiert. Die Zellen sollten auf dem Objektträger möglichst dicht, aber nicht übereinander liegen. Nach Luftrocknung wurden sie mit May-Grünwald und Giemsa *(87) gefärbt, getrocknet und mit Eukitt und Glasplättchen abgedeckt. In beiden Proben wurden unter dem Lichtmikroskop bei 400, bzw. 1000 facher Vergrößerung jeweils 300 Leukozyten differenziert und das Ergebnis auf Prozentwerte umgerechnet. Dabei wurden die Werte der Blasten, Plasmazellen und Makrophagen auf 0,1, die der übrigen Zellen auf 0,5 (bzw. 1,0 im Teil 4.4) gerundet.

Als Beweis, daß das Aspirat tatsächlich aus der Niere stammt und als repräsentative Probe anzusehen ist, wurde gefordert, daß mindestens 5 % der kernhaltigen Zellen eindeutig als Nierenparenchymzellen zu identifizieren waren. Der morphologische Zustand dieser Zellen wurde ebenfalls befundet. Um die tatsächliche Inflammation der Nieren zu beurteilen, wurde jeweils die Differenz aus Diff.88 von Probe A und von Probe B gebildet, das sogenannte Inkrement. Dieses Inkrement ist ein Maß für die aktuelle Transplantat-inflammation (siehe jeweils 4.x.3). Die prozentuale Leukozytenzusammensetzung der Probe B wurde außerdem als Diff.88 des peripheren Blutes zugrunde gelegt (siehe jeweils 4.x.1).

d) Transplantat-Aspirations-Zytologie (TAZ)

Bei der Feinnadelbiopsie eines Nierentransplantates werden Nierenparenchymzellen, rote und weiße Blutzellen aspiriert. Die Grundlage für die Differenzierung der kernhaltigen Zellen, vor allem der verschiedenen Nierenzellen ist eine Publikation von P. Häyry *(59).

Bei den Parenchymzellen werden Endothelzellen - sie stellen den größten Anteil -, Tubuluszellen (proximale Tubuluszellen, Zellen der Henle-Schleife und distale Tubuluszellen) sowie Glomerulumzellen unterschieden. Veränderungen an diesen Zellen geben Hinweise auf den Zustand des

1) Cytospin I, Shandon Scientific Co, London, England

Transplantates sowie auf eventuelle Schäden. Die Zuordnung von morphologischen Veränderungen zur Schädigungsursache ist allerdings nur im Zusammenhang mit anderen Laborwerten, der Klinik und dem zeitlichen Ablauf möglich *(60). Die an den Gewebezellen sichtbaren Veränderungen sind bei den verschiedenen Schädigungsmechanismen kaum zu unterscheiden. Im Falle der Tubuluszellen führen Abstoßung, Minderdurchblutung (-> akute Tubulusnekrose) und toxische Substanzen (CsA ?) zu einer schaumigen Degeneration des Zytoplasma. Dieses Bild ähnelt der aus der Histopathologie bekannten *(31) vakuoligen Degeneration der Tubuluszellen.

Zur Differenzierung der vorhandenen weißen Blutzellen steht über die Arbeiten von Häyry hinaus die gesamte hämatologische Literatur zur Verfügung *(z.B. 64,106). Für die Abstoßungsreaktion des Körpers gegen das Transplantat sind die mononukleären Zellen von Bedeutung. Diese wurden in der vorliegenden Arbeit in Lymphozyten und Lymphoblasten (T-Zellen -> zelluläre Abwehr), Plasmazellen und Plasmablasten (B-Zellen -> humorale Abwehr) sowie Monozyten und Makrophagen (-> phagozytierende Zellen) unterteilt. Die verschiedenen segmentkernigen Granulozyten wurden in den Tabellen nicht mit aufgeführt, da sie nicht an der Reaktion gegen Allografttransplantate beteiligt sind *(9). Sie ergänzen die aufgelisteten Anteile der mononukleären Zellen bei den Blutbildern zu 100, bei den Inkrementtabellen zu Null (negative Werte).

Da mononukleäre Zellen auch im Blut vorkommen, und jede Biopsie auch Blut enthält (durch Punktion von kleinen Blutgefäßen) wird zur Beurteilung der Transplantatinfektion die Differenz aus dem Diff.BB des Biopsieaspirates und dem Diff.BB des auf die gleiche Weise weiterverarbeiteten Blutes gebildet. Ein positives Resultat bei dieser Differenzbildung (prozentualer Anteil der Zellart in der Biopsie minus dem im Blut), genannt Inkrement, zeigt die Anreicherung dieser Zellen im Nierengewebe an.

Als Maß für die Gesamtinfektion im Transplantat hat P. Häyry das sogenannte "korrigierte Inkrement" (KI) eingeführt. Dazu ordnete er den einzelnen mononukleären Zellen entsprechend ihrer vermuteten Bedeutung für die Abstoßungsreaktion bestimmte Konstanten zu. Die Inkremente der

verschiedenen einkernigen Leukozyten werden mit diesem Bewertungsfaktor multipliziert (Lymphozyten $\times 0,1$; Monozyten $\times 0,2$; Blasten, Plasmazellen und Makrophagen $\times 1,0$). Die so gewichteten Einzel-Inkrementen werden addiert. Das resultierende KI gilt als Maß für die Intensität der zellulären Abstoßungsreaktion ^{*}(59).

Obwohl Häyry selbst diese Gewichtung als willkürlich bezeichnet und sich lediglich auf eine retrospektive Analyse von 1000 Biopsien stützt, wurde in dieser Arbeit an zwei Stellen auf das KI zurückgegriffen. Mit seiner Hilfe wird die Gesamtinflammation unter CsA-Basistherapie beschrieben (Kap. 4.2) sowie Beginn und Ende der Abstoßungstherapie (Kap. 4.4) in dem Zeitraum ohne Basisimmunsuppression festgelegt.

3.4.2 Blutentnahme

Täglich wurden 5 ml EDTA-Blut aus einer peripheren Vene entnommen. Davon wurden 10 μ l für die FNAB-Auswertung gebraucht (siehe 3.4.1). Der Rest stand für weitere Messungen zur Verfügung.

a) Die täglichen Bestimmungen im Vollblut bestanden aus :

- Erythrozyten- und Leukozytenzahl.
- Hämoglobinkonzentration, wurde mit einem Häm-Analyzer ¹⁾ gemessen.
- Hämatokrit (HK)

Heparinisierte Kapillarröhrchen wurden mit Blut gefüllt, bei 5000 U/min 5 min zentrifugiert ²⁾ und mit einer HK Schablone ausgewertet.

- Blutausstrich (BA)

Es wurde ein konventioneller BA gefertigt, mit May-Grünwald Giemsa gefärbt und bei Bedarf (z.B. Infektionsverdacht) differenziert.

- Harnstoff

Zur Orientierung über die Transplantatfunktion diente die tägliche Bestimmung der Harnstoffkonzentration im Vollblut mit Teststreifen ³⁾.

1) Häm-Analyzer ^R, Clay-Adams-Laboratories, Canada

2) Hämatokritzentrifuge ^R, Hettich GmbH, Tuttlingen

3) Merkognost ^R Harnstoff, Merck, Darmstadt

- Die restlichen 4 ml Blut wurden bei 3000 U/min für ca 10 Minuten zentrifugiert, das Überstehende Plasma abpipettiert und für spätere Sammelbestimmungen eingefroren (-18°C).

b) Die Sammelbestimmungen im Plasma bestanden aus :

- Harnstoff und Kreatinin¹⁾
Messung nach Anleitung der biochemischen Testkombination

- Elektrolyte

Von 5 Hunden wurden die täglichen Serumkonzentrationen von Natrium und Kalium flammenfotometrisch bestimmt. Für die ersten 16 Tage sind die täglichen Mittelwerte, für die restliche Zeit nur noch die durchschnittlichen Minimal und Maximalwerte, sowie die Konzentration am Todestag tabelliert.

- Ciclosporin

Bei einer randomisierten Auswahl von 30 Seren der ersten 14 Tage konnte mit Hilfe eines Radioimmunoassay der Ciclosporin Serumspiegel bestimmt werden *(26).

3.5 Versuchsende

Das Versuchsende wurde vorgegeben durch Tod des Hundes oder bei stark reduziertem Allgemeinzustand (AZ), bzw. Nierenversagen, künstlich herbeigeführt. Bei diesen Hunden wurde in einer Pentobarbitalnarkose²⁾ eine Sektion durchgeführt und anschließend durch KCl-Injektion ein Herzstillstand erzeugt (siehe 3.2.3 b). Dieses Vorgehen hatte den Vorteil, daß das Transplantat noch in durchblutetem Zustand beurteilt, vitale Gefrierschnitte und eine letzte FNAB unter Sicht gewonnen werden konnten. Die übrigen Organe zeigten noch keine postmortalen Veränderungen.

1) Biochemische Testkombination^R, Boehringer GmbH, Mannheim

2) Nembutal^R, Ceva GmbH, Bad Segeberg

3.5.1 Sektion

Bei allen Hunden wurde eine Sektion zur Klärung der Todesursache und des Transplantatzustandes durchgeführt. Bei der Niere wurde geachtet auf :

Größe, Oberflächenbeschaffenheit, Verwachsungen mit der Umgebung, lokale Entzündungen (FNAB), Blutkoagel, Risse in der Nierenkapsel, Gefäßdurchgängigkeit, Gewicht, Nierenquerschnitt, Nierenbecken (frei oder Koagel, aufgeweitet oder Schleimhauteinrisse), Ureter (Durchmesser, Verlauf, Durchgängigkeit, Blasenanastomose), Blaseninhalt.

3.5.2 Proben für die Histopathologie

Aus der Mitte des Transplantats wurde ein 5mm dicker Querschnitt mit anhängendem Gefäßpol einschließlich der Anastomosen und Ureter mit Blasenplastik gewonnen. Diese Scheiben wurden in 5% Formalin Lösung eingelegt. Bei noch durchbluteten Nieren wurden außerdem 3 Präparate für Gefrierschnitte (5mm Würfel) von verschiedenen Stellen des Nierenparenchyms entnommen und in flüssigem Stickstoff eingefroren. Formalin- und Gefrierpräparate wurden mit einem kurzen Bericht in die Pathologie geschickt. Dort wurden die Präparate in 3-5 um dicke Scheiben geschnitten, mit Hamalaun gefärbt, auf Objektträger aufgezogen und lichtmikroskopisch befundet. Die Auswertung der histologischen Befunde erfolgte semiquantitativ *(96).

4 E R G E B N I S S E

4.1 Allgemeines

4.1.1 Gewichtsentwicklung der Versuchstiere

Berechnet wurde der durchschnittliche Gewichtsverlust pro Tag in Prozent des Ausgangsgewichtes während der gesamten Versuchszeit. Der Gewichtsverlust beträgt :

Gruppe I : - (0,65 / 0,40) %/Tag

Gruppe II : - (0,55 / 0,35) %/Tag

Gruppe III : - (0,45 / 0,25) %/Tag

Es fiel auf, daß bei den meisten Tieren 2/3 des gesamten Gewichtsverlustes (im Durchschnitt 15 % vom Ausgangsgewicht) während der ersten 14 Tage auftrat.

4.1.2 Überlebenszeit

Gezählt wurden die Tage ab dem 1. Tag post Op bis zum Todestag. (T = Tage Überlebenszeit, *T = Mittelwerte aller T, M = Median aller T)

Gruppe I : T = (28,24,22,18)

-> M = 23 *T = 23 / 4

Gruppe II : T = (32,38,26,32,28)

-> M = 32 *T = 31,2 / 4,6

Gruppe III : T = (25,35,54,32,33)

-> M = 33 *T = 36 / 11

Ohne Berücksichtigung des Wertes 54 ergeben sich folgende Werte M' und T' für Gruppe III : -> M' = 32,5 * T' = 31,2 / 4,3

4.1.3 Todesursache

Aus klinischem Verlauf, Sektionsbefund und Histopathologieergebnissen wurde auf die wahrscheinliche Todesursache geschlossen.

Bei allen Hunden wurde seitens des Pathologen eine Abstoßungsreaktion der Niere festgestellt (Art und Stadium der Abstoßung siehe 4.1.5). Das Ableben der Tiere konnte aber nur zum Teil auf die abstoßungsbedingte Urämie zurückgeführt werden. Im einzelnen wurden bei den Hunden folgende Todesursachen festgestellt (in der Reihenfolge ihrer Bedeutung) :

- Gr. I**
- V 1 : Urämie (AR), Kachexie
 - V 11 : Eitrige Bronchitis und Peribronchitis, Urämie (AR)
 - V 13 : Urämie (AR), Pneumonie, Magenculusblutung
 - V 16 : Pneumonie, Urämie (AR)
- Gr. II**
- V 2 : Urämie (AR)
 - V 4 : Pneumonie, akutes Lungenödem (bei Infusion), Urämie (AR)
 - V 5 : Urämie (AR), Pneumonie
 - V 14 : Urämie (AR), Pneumonie
 - V 19 : Enteritis, Urämie (AR)
- Gr. III**
- V 3 : Urämie (AR)
 - V 7 : Urämie (Harnstau an Blasen-anastomose und AR)
 - V 9 : Kachexie, akutes Lungenödem (bei Infusion), Urämie (AR)
 - V 15 : Urämie (AR), Pneumonie
 - V 17 : Urämie (AR)

4.1.4 Verlust an Versuchstieren

Insgesamt 5 Hunde wurden von der Auswertung ausgeschlossen, da sie vor Abschluß der 14-tägigen Basisimmunsuppression mit Ciclosporin verstarben. Ihr Tod war nicht auf ein immunologisch bedingtes Nierenversagen zurückzuführen. Im folgenden werden die Ursachen für die Ausfälle und die Überlebenszeit "T" der Tiere aufgeführt :

- | | |
|--|--------|
| V 6 : Osmotische Nephrose | T = 5 |
| V 8 : Invagination, Pneumonie | T = 10 |
| V 10 : Nierenarterienthrombose | T = 7 |
| V 12 : Insuffiziente Blasen-anastomose | T = 4 |
| V 18 : Enteritis, Pneumonie | T = 9 |

4.1.5 Histopathologie der Nierentransplantate

Gruppe I : Ciclosporin

Es lassen sich keine systematischen Gemeinsamkeiten erkennen. Zusammengefaßt ergab sich bei den Nieren der Gruppe I :

V 1 : Zelluläre Transplantatabstoßung

V 11 : Schwere zelluläre und humorale Abstoßung mit fibrinoider Gefäßwandnekrose

V 13 : Schwere zelluläre Transplantatabstoßung

V 16 : Akute humorale Abstoßung (Transplantatvaskulopathie)

Gruppe II : Ciclosporin / ALG

Die Nieren dieser Versuchsgruppe zeigten gleichmäßige (bei V 4 fleckförmige) Infiltrate von kleinen und großen Lymphozyten, lymphoiden Zellen sowie Plasmazellen im Interstitium. Die Veränderungen der Nieren reichten von Ödem und Fibrose (V4) bis zu flächig autolytischen Arealen (V19). Im Randbereich der Nekrosen wurden Fibrinexsudation und sekundäre Einblutung beobachtet. Die Nierenrinde war stärker als das Nierenmark, Ureter und peripelvines und perirenales Fettgewebe betroffen.

Bei V 2 fand sich ein bereits teilweise organisiertes Blutkoagel im Nierenbecken, bei V 4 ein Nierensubinfarkt und eine teilweise organisierte Thrombose einer Hilusvene.

An den Tubuli wurden Epitheldegenerationen und Nekrosen festgestellt. Bei V 2 und V 4 fand sich in den Tubuli ein eiweißartiges Material und Erythrozyten, bei V 4 und V 19 grobschollige Verkalkungen.

In den Glomeruli waren die Schlingen zum Teil kollabiert, bei V 19 zeigten sich zusätzlich Fibrinniederschläge und eine beginnende Schlingennekrose.

Die Gefäße waren in Form von Infiltraten, vor allem in größeren Venen, sowie durch fibrinoide Gefäßwandnekrosen in kleineren Arterien von der Abstoßung betroffen.

Zusammenfassung :

Vier Nieren dieser Gruppe sind durch eine starke kombinierte humoral/zelluläre Abstoßungsreaktion erheblich geschädigt und weisen eine fibrinoide Gefäßwandnekrose auf. Bei V 4 sah der Pathologe lediglich eine zelluläre Reaktion.

Gruppe III : Ciclosporin / Ciclosporin

Das Interstitium dieser Nieren war dicht bis sehr dicht, fleckig bis gleichmäßig von kleinen und großen Lymphozyten, lymphoiden Zellen und Plasmazellen infiltriert. Auch hier ist die Nierenrinde am stärksten betroffen. Die Schäden reichen bei V 7, V 9 und V 15 bis zu Nekrosen und autolytischen Zonen.

An den Tubuli wurden teilweise Epitheldegenerationen und Nekrosen festgestellt. Nur bei wenigen Glomeruli waren Schlingen kollabiert. Die Gefäße waren unauffällig mit Ausnahme von V 17, wo eine fibrinoide Gefäßwandnekrose der kleinen Arterien vorlag.

Bei V 3 fand sich ein Ausgußkoagel des Nierenbeckens, bei V 7 waren Ureter und Nierenbecken durch eine Stenose an der Ureterimplantationsstelle maximal dilatiert.

Zusammenfassung :

Vier Nieren dieser Versuchsgruppe sind durch eine zelluläre Transplantatabstoßungsreaktion geschädigt, bei V 17 trat eine kombinierte Abstoßungsreaktion auf.

4.2 Basisimmunsuppression

Eingang in diesen Teil der Auswertung fanden die Daten von 14 Hunden vom Operationstag bis zum Tag 18 post Op. Es wurden tägliche Mittelwerte berechnet. Die Tiere standen von Tag 0-13 post Op unter Ciclosporin-Mono-Immunsuppression.

4.2.1 Ergebnisse im Vollblut

a) Rotes Blutbild : (Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit) (Tab.I)

Nach der Operation fallen die drei gemessenen Parameter des roten Blutbildes in 2 Tagen um etwa 10 % ab. Ein erneuter Rückgang ist ab Tag 14 festzustellen.

b) Leukozyten : (Tab.I)

Die postoperative Leukozytose bildet sich schnell zurück. Das folgende

Tag	Erythrozyt.	Hämoglobin	Hämatokrit	Leukozyten	Plasmazell.	Lymphobl.	Lymphozyten	Monozyten
0	6,7 ± 0,4	18,1 ± 1,9	47,5 ± 5	12,5 ± 4	2,1 ± 2	0,8 ± 1,2	11 ± 5,5	13 ± 6
1	6,2 ± 0,8	16,4 ± 2	44 ± 6,5	24,5 ± 8	1,1 ± 1,9	0 ± 0,1	3,5 ± 2,5	8,5 ± 6
2	6 ± 0,9	16,5 ± 2,1	42 ± 5	21 ± 6	1,2 ± 1,1	0,6 ± 0,8	5 ± 3	9,5 ± 3
3	6 ± 1	15,7 ± 3,1	42 ± 7	17,5 ± 7	1 ± 1,4	0,6 ± 0,8	9 ± 4	12 ± 2
4	6,1 ± 0,9	15,5 ± 2,8	42 ± 7	16,5 ± 6	0,5 ± 0,7	0,6 ± 1	8 ± 4,5	13,5 ± 3
5	6,1 ± 1	15,8 ± 2,9	42,5 ± 8	16 ± 5,5	0,2 ± 0,2	0,5 ± 1	8 ± 4	13 ± 3,5
6	6,1 ± 1,2	16 ± 3,1	42,5 ± 8	15,5 ± 5,5	0,3 ± 0,4	0,5 ± 0,7	8 ± 5	12,5 ± 3,5
7	6,1 ± 1,1	16 ± 2,9	43 ± 6,5	15 ± 6	0,6 ± 0,6	0,4 ± 0,4	9 ± 5	12 ± 3,5
8	6,1 ± 0,8	15,9 ± 2,5	42 ± 6,5	16 ± 6	0,7 ± 0,7	0,4 ± 0,4	10 ± 5,5	11,5 ± 5
9	6 ± 0,9	15,8 ± 2,6	41 ± 5,5	17 ± 7	0,8 ± 0,9	0,5 ± 0,6	10 ± 4,5	11 ± 5
10	5,9 ± 0,9	15,5 ± 2,5	41 ± 5	18 ± 8	0,8 ± 0,8	0,5 ± 0,6	9,5 ± 4	10,5 ± 4
11	5,8 ± 0,9	15,5 ± 2,1	41 ± 4	18 ± 8	0,6 ± 0,6	0,5 ± 0,8	9 ± 3,5	10 ± 4,5
12	5,8 ± 0,9	15,5 ± 1,9	41 ± 4	17 ± 8	0,4 ± 0,4	0,5 ± 0,8	8 ± 4,5	10 ± 5
13	5,9 ± 0,7	15,6 ± 1,9	41 ± 3,5	16 ± 7	0,4 ± 0,4	0,6 ± 0,9	9 ± 4,5	10,5 ± 6
14	5,9 ± 0,8	15,6 ± 2,1	41 ± 4	15 ± 6,5	0,5 ± 0,5	0,6 ± 0,6	10 ± 5,5	11 ± 5,5
15	5,7 ± 0,5	15,5 ± 2,1	40,5 ± 3,5	17 ± 6,5	0,6 ± 0,7	0,5 ± 0,6	10 ± 2	11 ± 6
16	5,6 ± 0,6	15 ± 2,3	39 ± 4	16 ± 6	0,9 ± 1,2	0,3 ± 0,4	9 ± 3,5	10 ± 3,5

Tabelle I : Kleines Blutbild und Differentialblutbild der mononukleären Zellen an den
Tagen 1 bis 16 post Operationem (n = 14)

Plateau liegt 20-40 % über dem Ausgangswert.

c) Differentialblutbild (Diff.B.B.) : (Tab.I)

Am ersten postoperativen Tag beobachtet man im Diff.B.B. eine ausgeprägte Abnahme der mononukleären Zellen. Die Lymphoblasten sind am stärksten, die Monozyten am geringsten betroffen.

Im weiteren Verlauf (Tag 2-13) wird dieser Rückgang teilweise kompensiert. Eine Ausnahme bildet die Plasmazellreihe, die ihren Tiefpunkt erst nach 5 Tagen erreicht.

Nach Absetzen des Ciclosporin (Tag 14-16) steigt der Anteil der Plasmazellreihe am Diff.B.B. deutlich an, während der Anteil aller anderen Zellen zurückgeht.

Rechnet man die Zellzahl pro mm³ aus (durch Multiplikation des prozentualen Anteils mit der Gesamtleukozytenzahl pro mm³) so wird deutlich, daß die Lymphoblasten und die Plasmazellreihe auch absolut abnehmen. Die Monozyten liegen von Tag 1-15 ca 20 % und die Lymphozyten von Tag 3-16 ca 10 % über Ausgangswert.

4.2.2 Ergebnisse im Serum (Tab.II)

Die im Serum von 9 Tieren bestimmten Natrium- und Kalium-Konzentrationen liegen vom Tag 0-16 im Normbereich. Postoperativ waren die Natrium-Werte leicht erniedrigt, die Kalium-Werte leicht erhöht.

Bei allen 15 Hunden wurde täglich die Harnstoff- und Kreatininkonzentration gemessen. Unter Ciclosporin-Therapie zeigte sich postoperativ ein Plateau dieser Nierenpotentials-Parameter auf angehobenem Niveau. Nach Absetzen der Immunsuppression stiegen die Werte weiter an.

Stichprobenartige Messungen von 20 Ciclosporin-Serumspiegeln mit Hilfe eines Radioimmunoassay ergaben einen Mittelwert von 660 / 380 ng/ml. Die Werte streuten dabei zwischen 110 und 2500 ng/ml, beim gleichen Hund zwischen 380 und 2500 ng/ml.

Tag	Natrium mmol/l	Kalium mmol/l	Harnstoff mg/100 ml	Kreatinin mg/100 ml
0	148 $\pm$ 7	4,0 $\pm$ 0,3	28 $\pm$ 11	0,9 $\pm$ 0,3
1	142 $\pm$ 7	4,7 $\pm$ 0,7	65 $\pm$ 14	1,6 $\pm$ 0,5
2	137 $\pm$ 5	4,5 $\pm$ 0,7	69 $\pm$ 22	1,5 $\pm$ 0,7
3	141 $\pm$ 7	4,4 $\pm$ 0,7	67 $\pm$ 23	1,2 $\pm$ 0,5
4	142 $\pm$ 13	4,4 $\pm$ 0,7	65 $\pm$ 23	1,0 $\pm$ 0,4
5	143 $\pm$ 12	4,2 $\pm$ 0,6	64 $\pm$ 24	1,0 $\pm$ 0,4
6	143 $\pm$ 11	4,0 $\pm$ 0,7	63 $\pm$ 28	1,0 $\pm$ 0,4
7	143 $\pm$ 12	3,8 $\pm$ 0,6	64 $\pm$ 29	1,1 $\pm$ 0,4
8	143 $\pm$ 9	3,6 $\pm$ 0,6	64 $\pm$ 27	1,0 $\pm$ 0,4
9	143 $\pm$ 10	3,5 $\pm$ 0,6	64 $\pm$ 29	1,0 $\pm$ 0,4
10	143 $\pm$ 10	3,6 $\pm$ 0,4	70 $\pm$ 28	1,1 $\pm$ 0,3
11	143 $\pm$ 6	3,6 $\pm$ 0,3	69 $\pm$ 29	1,1 $\pm$ 0,3
12	143 $\pm$ 7	3,6 $\pm$ 0,1	67 $\pm$ 25	1,2 $\pm$ 0,3
13	144 $\pm$ 8	3,7 $\pm$ 0,1	67 $\pm$ 20	1,2 $\pm$ 0,4
14	145 $\pm$ 7	3,8 $\pm$ 0,3	69 $\pm$ 23	1,2 $\pm$ 0,3
15	146 $\pm$ 8	3,9 $\pm$ 0,2	76 $\pm$ 32	1,2 $\pm$ 0,3
16	147 $\pm$ 10	4,0 $\pm$ 0,3	89 $\pm$ 44	1,4 $\pm$ 0,5

Tabelle II : Serum-Elektrolyte (n=9) und Nierenretentionsparameter (n=14) der Tage 0-16 post Operationem

4.2.3 Feinnadelaspirationsbiopsie(FNAB) (Tab.III)

Die Inkrementwerte (n= 11 / 1) der ersten 16 Tage post Op zeigen eine geringe mononukleäre Inflammation des Transplantates.

Bei der intraoperativ gewonnenen Biopsie (0,5-1 Stunde nach Beginn der Transplantatdurchblutung) fällt der mit fast 1 relativ hohe Inkrementwert der Plasmazellreihe auf. Wie im peripheren Blut tritt das Minimum dieser Zellen am Tag 5 ein. Zum Ende der ersten Woche liegen die Werte wieder über 1. Nur bei den Lymphozyten ergibt sich einmal ein Inkrement

Tag	Plasmazellen Inkrement	Lymphoblasten Inkrement	Lymphozyten Inkrement	Monozyten Inkrement	KI
0	0,9 $\pm$ 1,2	0,1 $\pm$ 0,2	1,0 $\pm$ 1,5	1,5 $\pm$ 2,5	1,4
1	0,6 $\pm$ 0,5	0,2 $\pm$ 0,3	0,0 $\pm$ 0,0	2,0 $\pm$ 1,5	1,2
2	1,2 $\pm$ 1,2	0,3 $\pm$ 0,4	1,5 $\pm$ 2,0	5,5 $\pm$ 6,0	2,7
3	1,1 $\pm$ 1,0	0,4 $\pm$ 0,2	3,5 $\pm$ 4,5	6,5 $\pm$ 5,0	3,1
4	0,8 $\pm$ 0,8	0,5 $\pm$ 0,6	4,0 $\pm$ 5,0	7,0 $\pm$ 4,5	3,1
5	0,5 $\pm$ 0,4	0,3 $\pm$ 0,4	4,0 $\pm$ 4,5	6,5 $\pm$ 3,5	2,5
6	0,6 $\pm$ 0,6	0,2 $\pm$ 0,2	5,0 $\pm$ 4,5	7,5 $\pm$ 4,5	2,7
7	1,1 $\pm$ 1,0	0,3 $\pm$ 0,7	6,0 $\pm$ 3,5	8,5 $\pm$ 5,0	3,7
8	1,0 $\pm$ 0,7	0,3 $\pm$ 0,2	5,0 $\pm$ 5,0	8,0 $\pm$ 6,5	3,4
9	1,1 $\pm$ 0,6	0,4 $\pm$ 0,5	4,5 $\pm$ 7,0	7,5 $\pm$ 6,0	3,5
10	0,9 $\pm$ 0,5	0,4 $\pm$ 0,6	5,5 $\pm$ 5,5	7,0 $\pm$ 4,5	3,2
11	0,7 $\pm$ 0,6	0,3 $\pm$ 0,5	6,0 $\pm$ 5,0	6,0 $\pm$ 3,5	2,8
12	0,5 $\pm$ 0,4	0,4 $\pm$ 0,2	5,5 $\pm$ 5,0	6,0 $\pm$ 3,0	2,6
13	0,6 $\pm$ 0,6	0,5 $\pm$ 0,5	4,5 $\pm$ 4,0	5,0 $\pm$ 3,5	2,5
14	0,6 $\pm$ 0,5	0,5 $\pm$ 0,6	4,0 $\pm$ 2,5	4,0 $\pm$ 3,5	2,3
15	0,6 $\pm$ 0,7	0,5 $\pm$ 0,7	4,5 $\pm$ 5,5	6,0 $\pm$ 6,5	2,7
16	0,5 $\pm$ 0,4	0,7 $\pm$ 0,1	5,5 $\pm$ 7,0	5,0 $\pm$ 3,5	2,8

Tabelle III : Ergebnisse der Feinnadelaspirationsbiopsie (n=11/1) an den Tagen 0-16 post Operationem

von 0, am Tag 1 post Op. Sonst beträgt ihr Inkrement im Betrachtungszeitraum etwa 5. Die Monozyten-Inkremente steigen lediglich Ende der ersten Woche auf Werte > 7 und liegen sonst bei 6 / 1 .

Einen Überblick über die Intensität der Inflammation gibt das ebenfalls in Tab.III berechnete KI (siehe 3.4.1 d), welches in Abb.3 dem Kreatininverlauf gegenübergestellt wird .

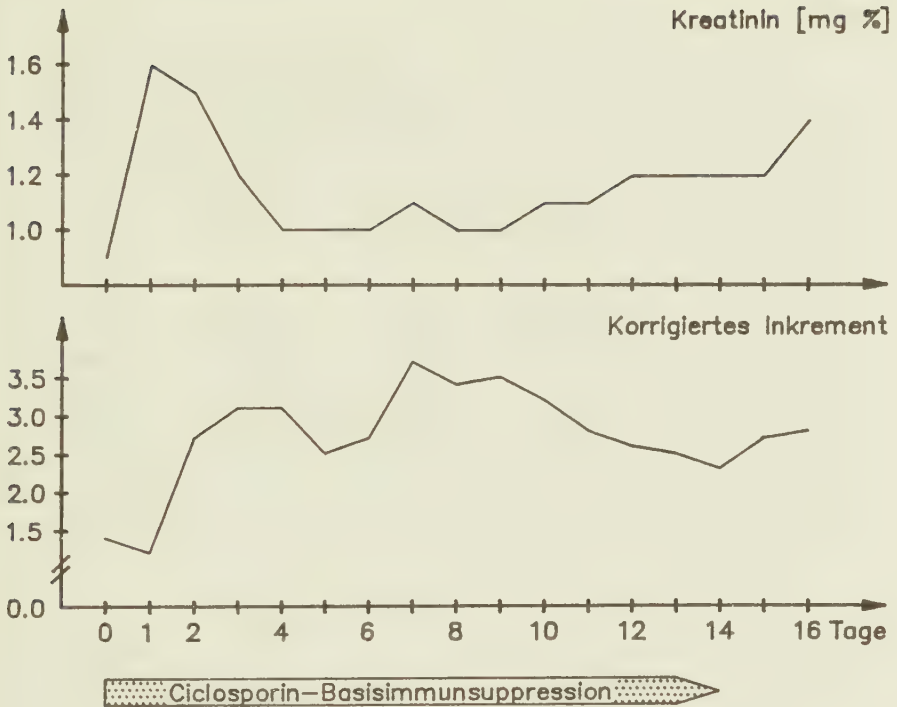


Abbildung 3 : Verlauf von Kreatinin und Korrigiertem Inkrement (KI)
an den Tagen 0-16 post Operationem

4.3 Kontinuierliche Betrachtung der 3 Versuchsgruppen während Abstoßungskrisen

In diesem Abschnitt werden die täglichen Mittelwerte der 3 Versuchsgruppen fortlaufend von Tag 16-31 post Op beschrieben. Bei Gruppe I (n=4) wurde keine Abstoßungstherapie durchgeführt, bei Gruppe II (n=5) mit ALG und bei Gruppe III (n=5) mit Cyclosporin.

4.3.1 Ergebnisse im Vollblut

a) Rotes Blutbild (Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit) (Tab. IV)

In den Gruppen I und III fällt jeweils zum Ende des Beobachtungszeitraumes ein leichter Anstieg der Hämoglobinkonzentration und des Hämatokrits bei gleichbleibenden Erythrozytenzahlen auf. Bei Gruppe II nehmen alle drei gemessenen Parameter des roten Blutbildes deutlich ab.

b) Leukozyten (Tab. IV)

Nach Absetzen der Ciclosporin-Basisimmunsuppression kommt es allgemein zu einem Rückgang der erhöhten Leukozytenzahlen. Mit den einsetzenden Abstoßungskrisen (ab Tag 19) vermehren sich die weißen Blutkörperchen in den Gruppen I und II erneut. In der Gruppe III beginnt diese Zellvermehrung erst am Tag 26. Dabei werden 20000 Leukozyten/mm nur von den Gruppen II (Tag 24) und III (Tag 30) über- und bis Tag 31 nicht mehr unterschritten. Die Maxima betragen in Gruppe II 24000 Leukozyten/mm (Tag 26) und in Gruppe III 22000 Leukozyten/mm (Tag 31).

c) Differentialblutbild (Diff. B.B.) (Tab. V und Abb. 4)

Das Diff. B.B. für die Tage 16-24 wird gemessen für die Hunde aller Versuchsgruppen erstellt (tägliche Mittelwerte). Die Hunde der Gruppen II und III sind nur solange berücksichtigt bis die Immunsuppression erneut für sie begann. Aus diesem Grund reduziert sich die Zahl der beteiligten Hunde von 14 auf 2.

Hervorzuheben ist hier lediglich die Reihenfolge der Maxima der einzelnen Zellpopulationen bei beginnender Abstoßungskrise :

Plasmazellreihe	Tag 19	Lymphoblasten	Tag 20
Lymphozyten	Tag 22	Monozyten	Tag 23

4.3.2 Ergebnisse im Serum

Von allen Tieren wurde im Serum bis zum Versuchsende Harnstoff und Kreatinin gemessen. Die Elektrolyte Na^+ und K^+ wurden nur bei einem Tier aus Gruppe I und jeweils zwei Tieren aus Gruppen II und III bestimmt. Aus diesem Grunde wurde bei den Elektrolyten auf die Berechnung und Auf-

Tage	Gruppe	Erythrozyten Mil/mm ³	Hämoglobin g/100 ml	Hämatokrit Vol %	Leukozyten x 1000/mm ³
16	I	5,5 ± 0,5	14,6 ± 1,6	37,0 ± 4,5	17,0 ± 11
	II	5,6 ± 0,5	14,8 ± 1,8	39,0 ± 3,0	15,0 ± 4,5
	III	5,7 ± 0,4	15,4 ± 2,7	40,0 ± 3,5	16,5 ± 5,5
17	I	5,6 ± 1,0	14,5 ± 2,6	36,0 ± 4,5	16,5 ± 10
	II	5,3 ± 0,5	14,0 ± 1,2	36,5 ± 2,5	13,5 ± 2,5
	III	5,6 ± 0,3	15,2 ± 2,7	39,5 ± 6,0	16,0 ± 6,0
18	I	5,7 ± 0,9	14,2 ± 2,4	35,5 ± 5,0	16,0 ± 9,0
	II	5,1 ± 0,4	13,4 ± 1,2	35,0 ± 3,5	12,5 ± 2,0
	III	5,6 ± 0,5	15,2 ± 2,7	38,5 ± 5,5	15,5 ± 6,0
19	I	5,5 ± 1,0	13,9 ± 2,1	35,0 ± 4,5	16,5 ± 8,5
	II	4,9 ± 0,6	12,7 ± 0,8	34,0 ± 3,5	13,0 ± 2,0
	III	5,6 ± 0,7	15,0 ± 2,3	38,5 ± 5,5	15,5 ± 6,0
20	I	5,3 ± 1,4	14,4 ± 2,3	35,0 ± 4,5	17,0 ± 11
	II	4,7 ± 0,5	12,2 ± 0,6	32,0 ± 3,5	13,5 ± 2,0
	III	5,7 ± 0,7	15,0 ± 2,3	39,0 ± 6,0	15,0 ± 6,0
21	I	5,9 ± 1,1	15,6 ± 1,5	36,0 ± 7,5	17,0 ± 12
	II	4,6 ± 0,5	11,8 ± 0,8	31,0 ± 2,5	14,5 ± 3,5
	III	5,6 ± 0,7	15,0 ± 2,6	39,0 ± 6,0	15,0 ± 6,5
22	I	6,3 ± 0,8	17,0 ± 2,1	37,0 ± 9,0	17,0 ± 12
	II	4,6 ± 0,7	11,3 ± 0,9	31,0 ± 2,5	15,0 ± 3,0
	III	5,5 ± 0,7	15,0 ± 2,8	39,0 ± 5,5	14,5 ± 5,0
23	I	6,0 ± 1,2	17,5 ± 2,1	38,0 ± 9,5	17,5 ± 11
	II	4,7 ± 0,5	11,7 ± 0,8	31,0 ± 3,0	16,5 ± 4,0
	III	5,4 ± 0,5	15,1 ± 2,3	39,0 ± 5,0	14,0 ± 4,0
24	I	5,8 ± 0,9	18,2 ± 2,5	39,0 ± 10	18,5 ± 10
	II	4,7 ± 0,6	12,1 ± 1,1	31,0 ± 3,5	19,5 ± 5,5
	III	5,4 ± 0,6	15,3 ± 2,2	39,0 ± 5,0	13,5 ± 3,0
25	II	4,8 ± 0,9	12,4 ± 1,8	31,0 ± 3,5	22,5 ± 6,0
	III	5,4 ± 0,8	15,5 ± 3,0	39,0 ± 6,0	13,0 ± 2,5
26	II	4,8 ± 1,1	12,6 ± 2,1	30,0 ± 3,5	24,0 ± 5,5
	III	5,3 ± 1,1	16,0 ± 3,3	39,5 ± 8,0	14,0 ± 4,5
27	II	4,7 ± 1,0	12,2 ± 0,8	29,0 ± 4,5	23,0 ± 4,5
	III	5,3 ± 1,3	16,4 ± 3,5	40,0 ± 9,0	15,5 ± 3,5
28	II	4,5 ± 0,9	11,7 ± 1,0	29,0 ± 4,0	22,0 ± 4,5
	III	5,5 ± 1,4	16,5 ± 4,3	41,0 ± 10	16,5 ± 3,5
29	II	4,3 ± 0,9	11,3 ± 0,7	29,0 ± 4,5	20,0 ± 4,5
	III	5,6 ± 1,3	16,5 ± 5,1	41,0 ± 10	17,5 ± 3,0
30	II	4,2 ± 0,8	11,2 ± 0,5	29,0 ± 5,0	20,5 ± 4,0
	III	5,6 ± 1,4	16,5 ± 5,2	41,5 ± 11	19,5 ± 3,0
31	II	4,2 ± 0,9	11,1 ± 0,9	29,0 ± 5,5	22,5 ± 6,5
	III	5,6 ± 1,5	16,6 ± 5,4	44,0 ± 12	22,0 ± 3,0

Tabelle IV : (vorhergehende Seite)

Kleines Blutbild der 3 Versuchsgruppen von Tag 16-21 post Operationem (Gr.I : n=4, Gr.II und Gr.III : n=5)

Tag	n	Plasmabl.	Plasmazellen	Lymphobl.	Lymphozyten	Monozyten
Differentialblutbild % / F N A B - Inkrement						
16	14	0,9 $\pm$ 1,2 0,4 $\pm$ 0,4	0,1 $\pm$ 0,2 0,1 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,4 0,7 $\pm$ 1,1	9,0 $\pm$ 3,5 5,5 $\pm$ 6,5	9,0 $\pm$ 3,5 5,0 $\pm$ 3,0
17	13	1,6 $\pm$ 2,2 0,6 $\pm$ 0,6	0,2 $\pm$ 0,4 0,0 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,4 0,8 $\pm$ 0,8	9,5 $\pm$ 6,0 4,5 $\pm$ 3,5	9,5 $\pm$ 4,0 4,5 $\pm$ 3,0
18	12	1,8 $\pm$ 1,9 0,8 $\pm$ 0,8	0,2 $\pm$ 0,4 0,1 $\pm$ 0,2	0,5 $\pm$ 0,4 0,7 $\pm$ 0,6	10,5 $\pm$ 5,5 5,5 $\pm$ 5,0	10,0 $\pm$ 5,0 5,5 $\pm$ 4,5
19	10	1,9 $\pm$ 1,6 1,1 $\pm$ 1,0	0,2 $\pm$ 0,3 0,1 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,4 0,7 $\pm$ 0,7	11,5 $\pm$ 7,0 6,0 $\pm$ 6,0	10,5 $\pm$ 4,5 6,5 $\pm$ 4,0
20	8	1,4 $\pm$ 0,9 1,7 $\pm$ 1,5	0,1 $\pm$ 0,2 0,3 $\pm$ 0,3	0,7 $\pm$ 1,0 0,8 $\pm$ 0,9	12,0 $\pm$ 8,5 9,0 $\pm$ 4,5	10,0 $\pm$ 5,0 9,0 $\pm$ 3,5
21	7	1,2 $\pm$ 0,9 1,4 $\pm$ 0,9	0 0,8 $\pm$ 0,4	0,4 $\pm$ 0,5 1,2 $\pm$ 1,0	12,5 $\pm$ 7,5 13,5 $\pm$ 8,0	10,5 $\pm$ 6,0 12,5 $\pm$ 7,5
22	5	1,5 $\pm$ 1,3 0,5 $\pm$ 0,2	0 0,3 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,6 1,0 $\pm$ 0,9	14,0 $\pm$ 6,0 7,0 $\pm$ 4,0	12,0 $\pm$ 9,5 16,5 $\pm$ 7,0
23	2	1,6 $\pm$ 1,5 0,3 $\pm$ 0,0	0 0,1 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,4 0,7 $\pm$ 0,0	12,0 $\pm$ 5,5 11,0 $\pm$ 8,5	13,5 $\pm$ 8,5 14,0 $\pm$ 3,5
24	2	1,7 $\pm$ 1,9 0,3 $\pm$ 0,5	0 0	0,1 $\pm$ 0,4 0,7 $\pm$ 0,5	9,0 $\pm$ 6,0 10,0 $\pm$ 6,0	12,5 $\pm$ 6,0 14,0 $\pm$ 9,5

Tabelle V : Mononukleäre Zellen in Differentialblutbild und Feinnadel-aspirationsbiopsie an den Tagen 16 bis 24 post Operationem.
Die Zahl der berücksichtigten Hunde nimmt von 14 auf 2 ab
(Erläuterung siehe bei 4.3.1c).

listung der Mittelwerte verzichtet. Es wurden lediglich die Minima und Maxima, sowie Ausgangs- und Endwerte tabelliert und der grundsätzliche Verlauf der Elektrolyt-Konzentrationen unabhängig von der Art der Immunsuppression beschrieben.

a) Elektrolyte (Tab.VI)

Bei allen Tieren beobachtet man ab Tag 16 einen allmählichen Anstieg des Natriumwertes um 9 / 2 mmol (Maximum zwischen Tag 18 und 27) und des Kaliumwertes um 1,5 / 0,8 mmol/l (Maximum zwischen Tag 21 und 45). Die Anstiege fallen zum Teil mit Applikationen der Immunsuppressiva (Abstoßungskrise) zusammen. Das folgende Absinken der gemessenen Elektrolytkonzentrationen setzt sich im Falle des Kalium (-1 / 0,2 mmol/l) bis 1-2 Tage vor Ableben der Tiere fort. Zum Todestag steigt es um 0,7 / 0,5 mmol/l an. Das Natrium erreicht sein Minimum (-9 / 2 mmol/l) 5 / 1,5 Tage vor dem Tod und steigt bis zum Versuchsende um 9 / 3 mmol/l an.

Versuch	1	2	3	4	9	Mittelwert	< >
Zeit							
S e r u m n a t r i u m (mmol / ml)							
Tag 16	155	143	132	151	155	147 / 10	
							+ (9 / 2)
Maxim.	166	149	144	159	164	156 / 10	
							- (9 / 2)
Minim.	155	139	138	150	155	147 / 9	
							+ (9 / 3)
V E	162	152	148	157	160	156 / 6	

S e r u m k a l i u m (mmol / ml)							
Tag 16	4,2	3,8	2,8	3,8	4,3	3,8 / 0,6	
							+(1,5 / 0,8)
Maxim.	4,9	6,6	4,3	5,6	5,2	5,3 / 0,8	
							-(1,0 / 0,2)
Minim.	4,1	5,7	3,4	4,4	3,8	4,3 / 0,9	
							+(0,7 / 0,5)
V E	4,5	7,4	4,0	5,0	4,1	5,0 / 1,4	

Tabelle VI : Serumelektrolyte von 5 Versuchstieren. Es sind jeweils die Werte von Tag 16, der maximale und minimale Wert sowie der Wert vom letzten Versuchstag aufgeführt; außerdem die entsprechenden Mittelwerte und mittleren Änderungen (< >).

b) Nierenretentionsparameter (Tab.VII)

Die Entwicklung der Nierenretentionsparameter ist durch einen mehr oder weniger steilen Anstieg gekennzeichnet.

- Harnstoff (Hst)

Die Harnstoffentwicklung der Gruppen I und II läuft bis zum Tag 24 parallel, danach setzt sich der Anstieg der Gruppe II verlangsamt fort. Bei Gruppe III fällt die Harnstoffretention bis Tag 26 deutlich geringer aus. Im weiteren Verlauf kommt es jedoch auch bei diesen Tieren zu einer erheblichen täglichen Steigerung, wenngleich die absoluten Werte stets ca 33 % unter denen der Gruppe II bleiben.

TAG	H A R N S T O F F (mg %)			K R E A T I N I N (mg %)		
	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III
16	101/ 55	96/ 57	98/ 67	1,6/1,3	1,5/1,3	1,4/0,8
17	116/ 86	117/ 73	104/ 70	2,1/1,4	1,8/1,5	1,6/0,7
18	133/ 95	139/ 86	101/ 82	2,5/1,7	2,0/1,7	1,7/1,1
19	146/103	150/ 97	105/ 69	3,1/2,0	2,2/2,0	1,8/0,9
20	158/108	167/ 95	112/ 78	3,9/2,2	3,0/2,7	1,9/0,9
21	189/134	205/ 91	119/ 74	4,3/2,5	3,8/3,2	2,4/1,6
22	247/149	254/ 74	130/ 71	5,3/2,5	5,0/3,0	3,1/2,3
23	299/156	316/ 52	142/ 66	6,1/1,6	6,7/2,9	3,6/2,7
24	359/154	376/ 67	149/ 67	8,4/3,9	8,0/2,9	3,9/2,7
25		427/ 89	172/ 72		9,0/1,9	4,3/2,8
26		459/125	182/105		10,5/1,7	4,8/3,3
27		487/142	248/ 81		11,9/1,0	5,4/3,2
28		508/156	290/ 82		12,4/0,4	6,1/3,4
29		550/174	314/ 94		12,9/0,1	6,5/3,9
30		604/183	345/143		13,4/0,6	6,7/5,2
31		630/171	397/168		13,8/1,4	7,4/6,1

Tabelle VII : Nierenretentionsparameter der drei Versuchsgruppen von Tag 16 bis 31 post Operationem (Gr.I: n=4, Gr.II und III: n=5)

- Kreatinin

Auch der Kreatininanstieg ist für die Gruppen I und II bis Tag 24 vergleichbar. Die Kurve der Gruppe III verläuft deutlich flacher. Hier beträgt die durchschnittliche tägliche Steigerung von Tag 20-31 0,5 mg% im Gegensatz zu etwa 1 mg% bei den Hunden der Gruppe II.

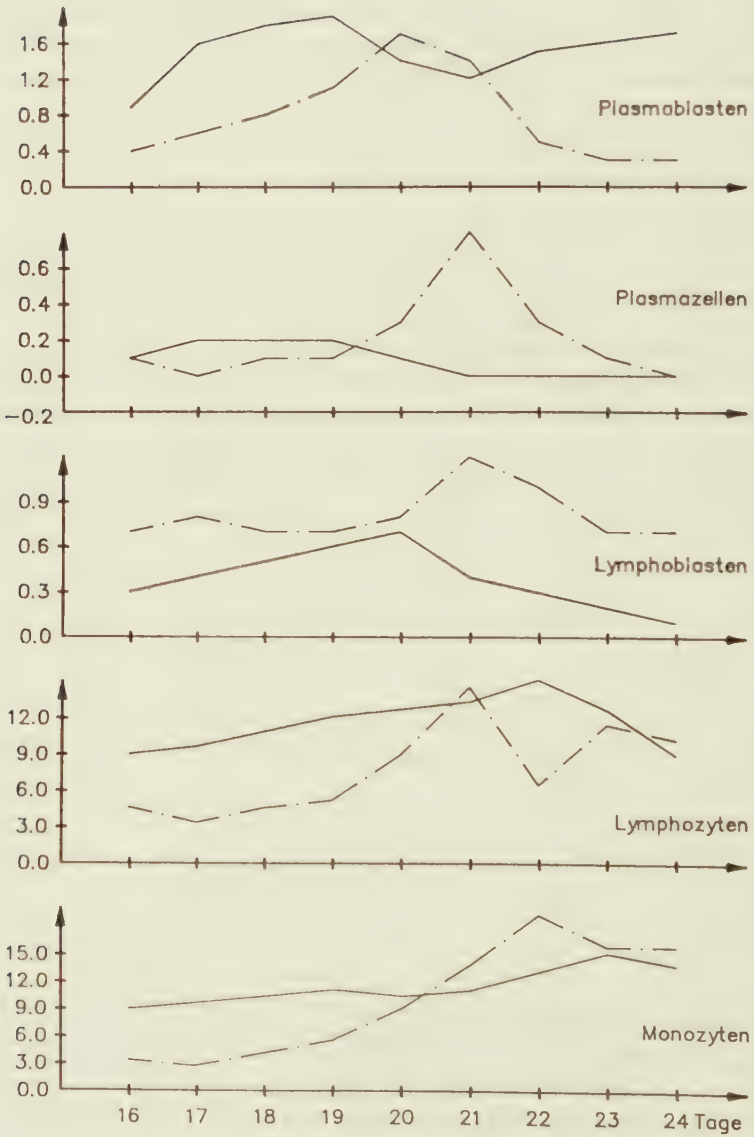
4.3.3 Feinnadelaspirationsbiopsie (Tab.V und Abb.4)

Für die kontinuierliche Beschreibung der FNAB-Resultate von Tag 16-24 gilt bezüglich der beteiligten Hunde aus den 3 Versuchsgruppen das gleiche wie für das Diff.B.B. (siehe 4.3.1 c).

In der Tabelle der gemeinsamen Inkremente von Tag 16-24 ist erkennbar, daß in den Nieren von allen Zellpopulationen die Lymphoblasten zuerst ansteigen (ab Tag 16) und das Maximum am Tag 21 erreichen. Die Anreicherung mit Plasmoblasten setzt erst am Tag 18 ein und erreicht ihren Höhepunkt am Tag 20, die Plasmazellen folgen einen Tag später. Bei Lymphozyten und Monozyten beginnt der Influx am Tag 20 und nimmt bis Tag 21 bzw. 22 zu.

Abbildung 4 : (folgende Seite)

Gegenüberstellung der Inkrementwerte — · — und der Werte des Differentialblutbildes — der mononukleären Zellen an den Tagen 16 bis 31 post Operationem.



4.4 Auf Abstoßungskrisen synchronisierte Betrachtung der

drei Versuchsgruppen

Die verschiedenen beobachteten Parameter werden nicht mehr als tägliche Mittelwerte betrachtet, sondern sind auf den Beginn der Abstoßungstherapie synchronisiert. Dieser Zeitpunkt wird in der weiteren Darstellung als "Tag 0" bezeichnet. An diesem Tag wurde in Gruppe II erstmals ALG, in Gruppe III Ciclosporin gegen die Abstoßungskrise verabreicht; in Gruppe I wurde nicht immunsupprimiert.

4.4.1 Ergebnisse im Vollblut

a) Rotes Blutbild (Tab. VIII)

Der Rückgang der drei gemessenen Parameter des roten Blutbildes während der Abstoßungskrise ist den Versuchsgruppen II und III gemein. Unter ALG-Therapie setzt sich diese negative Tendenz fort; im Fall des Hämatokrit über die Therapie hinaus, Erythrozyten und Hämoglobin erholen sich ab dem 4. Tag nach Therapiebeginn. Demgegenüber steigen unter Ciclosporin alle Werte des roten Blutbildes sofort an bis über den Ausgangswert.

b) Leukozyten (Tab. VIII)

Die Leukozytose bei beginnender Abstoßungsreaktion des Nierentransplantates geht unter Ciclosporin-Therapie sofort zurück. Ein erneuter Anstieg erfolgt erst nach Absetzen der Droge. ALG unterdrückt die Leukozyten nur für einen Tag. Anschließend vermehren sie sich erneut und übersteigen noch unter Therapie den Wert am Tag 0.

c) Differentialblutbild (Diff.B.B.) (Tab. VIII)

Plasmazellen (75 % Proplasmazyten), Lymphoblasten und Lymphozyten steigen bis zum Tag 0 (Beginn der Abstoßungstherapie) im peripheren Blut an, Monozyten zeigen keine Veränderung.

Die drei erstgenannten werden durch ALG signifikant supprimiert. Die Monozyten pendeln nach eintägigem Rückgang wieder um den Ausgangswert.

Tag	Erythrozyten	Hämoglobin	Hämatokrit	Leukozyten	Plasmazellen	Lymphoblasten	Lymphozyten	Monozyten
-2	4,9 + 0,9	13,3 + 2,3	34 + 7	14,0 + 3,5	0,9 + 0,5	0,3 + 0,4	6 + 5	8 + 2
-1	4,8 + 0,7	13,0 + 2,1	33 + 6	16,5 + 4,0	1,2 + 0,4	0,4 + 0,5	7 + 5	9 + 3
0	4,8 + 0,5	12,7 + 1,9	32 + 5	18,0 + 3,5	1,2 + 0,4	0,6 + 0,4	9 + 5	8 + 2
1	4,6 + 0,6	12,1 + 1,6	31 + 4	14,5 + 2,0	0,7 + 0,4	0,3 + 0,4	3 + 3	5 + 2
2	4,4 + 0,6	11,9 + 1,0	30 + 3	15,0 + 4,0	0,7 + 0,5	0,2 + 0,3	2 + 2	6 + 3
3	4,3 + 0,5	11,7 + 0,7	30 + 3	16,0 + 5,0	0,5 + 0,5	0,2 + 0,3	2 + 2	7 + 3
4	4,4 + 0,6	11,8 + 0,8	30 + 3	17,0 + 5,0	0,4 + 0,4	0,2 + 0,4	1 + 2	8 + 3
5	4,5 + 0,8	11,9 + 1,2	29 + 4	19,0 + 6,5	0,3 + 0,2	0,1 + 0,2	1 + 2	9 + 5
6	4,6 + 0,9	12,3 + 1,7	29 + 5	19,5 + 7,0	0,2 + 0,2	0,0 + 0,1	1 + 1	10 + 4
-2	5,4 + 0,7	14,9 + 2,6	39 + 6	15,0 + 6,0	0,9 + 0,7	0,4 + 0,3	7 + 5	9 + 2
-1	5,3 + 0,8	14,7 + 2,6	38 + 6	16,5 + 5,0	1,1 + 0,5	0,6 + 0,4	8 + 4	9 + 2
0	5,1 + 0,6	14,4 + 2,7	37 + 6	17,0 + 4,5	1,3 + 0,9	0,7 + 0,4	10 + 4	9 + 3
1	5,2 + 0,7	14,6 + 2,5	37 + 7	14,5 + 3,5	1,2 + 1,0	0,8 + 0,6	13 + 6	9 + 4
2	5,3 + 0,7	15,0 + 2,8	38 + 7	14,0 + 5,0	1,6 + 1,1	0,6 + 0,6	11 + 6	9 + 3
3	5,4 + 0,8	15,2 + 3,4	39 + 8	14,5 + 6,0	1,3 + 0,8	0,7 + 0,9	8 + 2	10 + 3
4	5,4 + 1,0	15,4 + 3,8	40 + 9	16,0 + 5,5	0,4 + 0,4	0,7 + 0,7	6 + 3	10 + 4

Tabelle VIII: Kleines Blutbild und Differentialblutbild der mononukleären Zellen von Gruppe II und III auf den Beginn der Abstoßungstherapie (Tag 0) synchronisiert (jeweils n = 5)

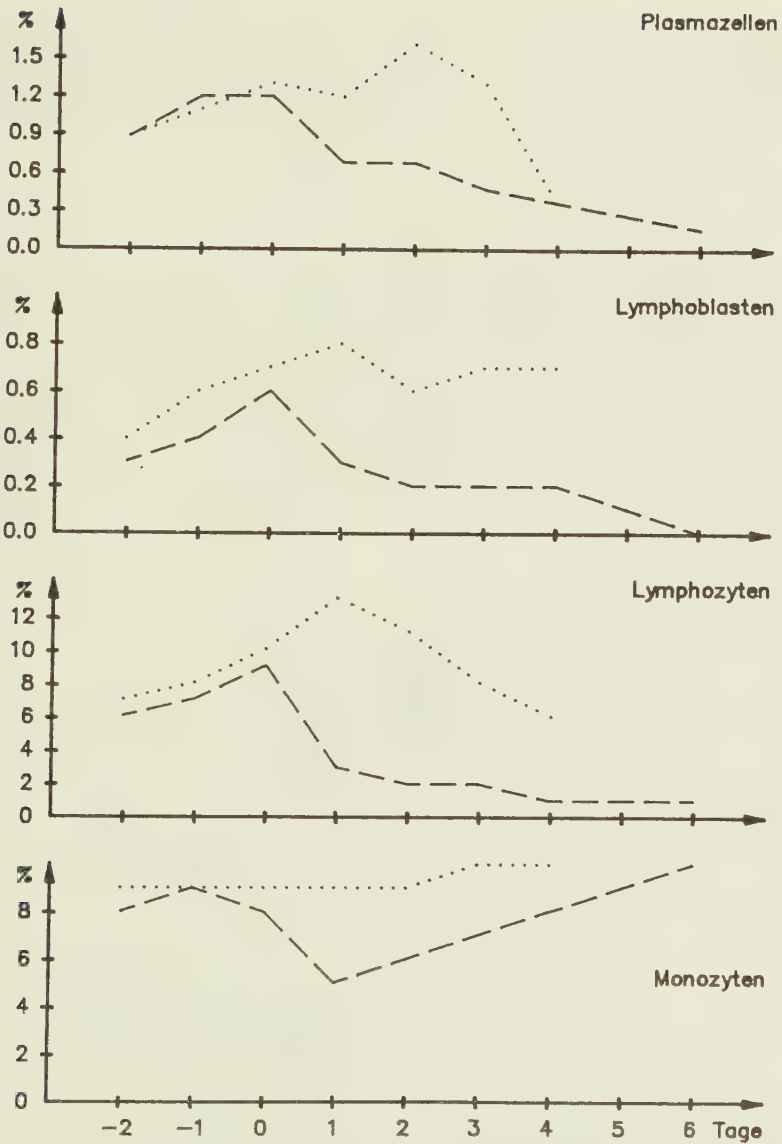


Abbildung 5 : Mononukleäre Zellen im Diff.B.B. synchronisiert auf Start der Abstoßungstherapie (Tag 0) mit ALG — — und CsA ·····

Unter Ciclosporin nehmen die Plasmazellen noch weiter zu und gehen erst nach dessen Absetzen spontan zurück. Lymphoblasten und Monocyten verhalten sich indifferent. Die Lymphozyten werden nach leichtem Anstieg (1. Tag unter Ciclosporin) unter den Ausgangswert gedrückt.

4.4.2 Ergebnisse im Serum : Nierenretentionsparameter (Tab. IX und Abb. 6)

Unter ALG-Therapie geht die tägliche Zunahme der Harnstoffkonzentration während der Abstoßungskrise von 34 auf 21 mg% zurück. In Gruppe III sind die Werte vergleichbar, 33 vor und 19 mg% nach Beginn der CsA-Therapie. Bereits ein Tag nach Absetzen beträgt der Anstieg wieder 29 mg%, bei Gruppe II 25 mg%. Auch der Anstieg des Kreatininwertes wird durch den Einsatz der Immunsuppression deutlich verlangsamt. Es ist jedoch mit den kurzen Therapieschüben nur in Einzelfällen gelungen, den Zuwachs ganz zu stoppen oder gar einen Abfall des absoluten Kreatinin- oder Harnstoffspiegels zu erreichen.

Tag	Harnstoff mg/100 ml				Creatinin mg/100 ml			
	Gr. II		Gr. III		Gr. II		Gr. III	
-3	130 ± 67	95 ± 47			2,6 ± 1,1	1,5 ± 0,8		
-2	162 ± 84	122 ± 70			3,0 ± 1,9	1,8 ± 0,9		
-1	194 ± 99	151 ± 95			3,7 ± 2,3	2,5 ± 1,3		
0	229 ± 114	188 ± 106			4,7 ± 3,2	3,4 ± 1,8		
1	251 ± 121	208 ± 118			5,6 ± 3,6	4,2 ± 2,8		
2	270 ± 123	226 ± 120			6,4 ± 3,8	4,9 ± 3,2		
3	293 ± 126	243 ± 122			7,3 ± 3,9	5,4 ± 3,6		
4	315 ± 129	272 ± 139			8,0 ± 3,8	6,0 ± 4,2		
5	335 ± 125				8,6 ± 3,4			
6	360 ± 136				9,4 ± 4,3			

Tabelle IX : Nierenretentionsparameter von Gr. II und III synchronisiert auf den Beginn der Abstoßungstherapie am Tag 0 (je n=5)

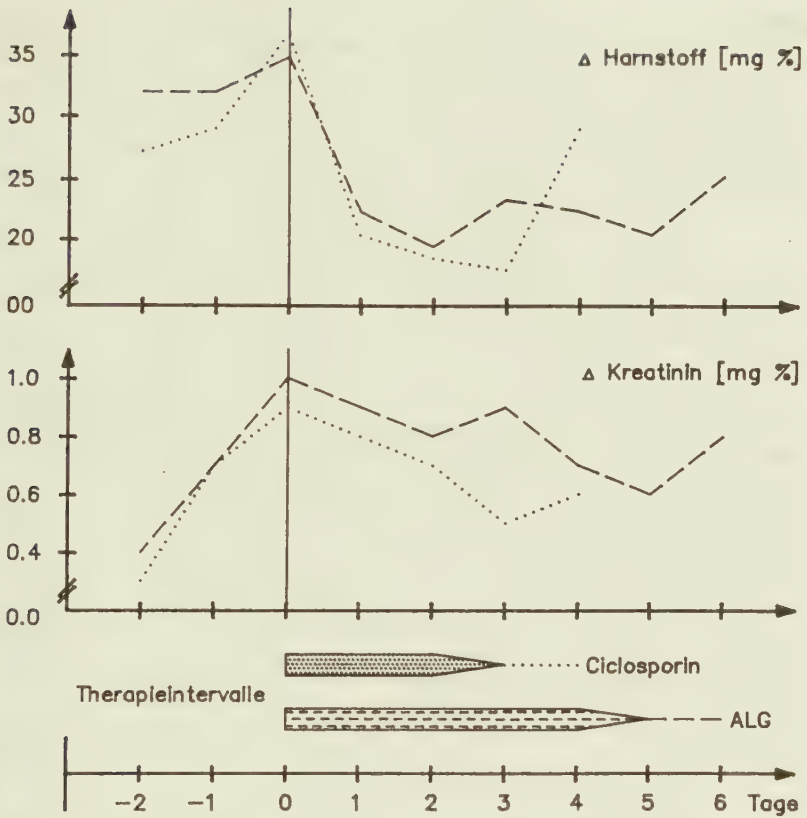


Abbildung 6 : Täglicher Anstieg der Nierenretentionswerte synchronisiert auf den Beginn der Abstoßungstherapie am Tag 0 (je n=5)

4.4.3 Feinnadelaspirationsbiopsie (Tab. X, Abb. 7)

Bis zum Tag 0 zeigen die drei Versuchsgruppen eine vergleichbare Entwicklung der Inkremente. Lymphoblasten verdoppeln, Plasmazellen, Lymphozyten und Monozyten verdreifachen ihren Anteil.

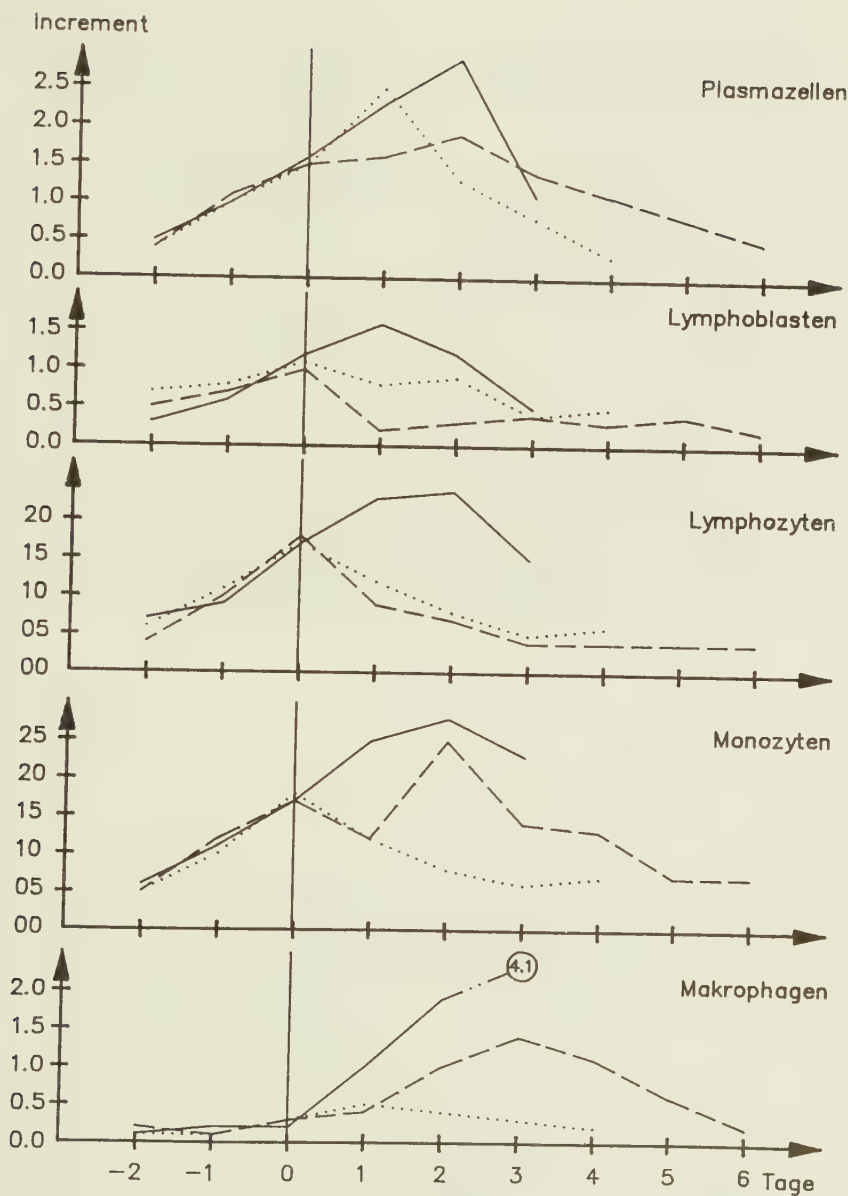
In den Gruppen I und II steigen die Plasmazellen weiter an bis zum Tag 2 auf 2,9, bzw. 1,9 und fallen dann wieder ab. Bei Gruppe III beobachtet

	Tag	Plasmazellen	Lymphoblasten	Lymphozyten	Monozyten	Makrophagen
Gr. I	-2	0,5 $\pm$ 0,4	0,3 $\pm$ 0,1	7 $\pm$ 3	6 $\pm$ 6	0,1 $\pm$ 0,2
	-1	1 $\pm$ 0,7	0,6 $\pm$ 0,2	9 $\pm$ 4	11 $\pm$ 8	0,2 $\pm$ 0,2
	0	1,6 $\pm$ 1	1,2 $\pm$ 0,5	17 $\pm$ 3	17 $\pm$ 8	0,2 $\pm$ 0,3
	1	2,3 $\pm$ 1,3	1,6 $\pm$ 0,9	23 $\pm$ 4	25 $\pm$ 9	1 $\pm$ 0,8
	2	2,9 $\pm$ 2,6	1,2 $\pm$ 1	24 $\pm$ 8	28 $\pm$ 7	1,9 $\pm$ 2,4
	3	1,1 $\pm$ 0,9	0,5 $\pm$ 0,3	15 $\pm$ 5	23 $\pm$ 6	4,1 $\pm$ 3,4
Gr. II	-2	0,4 $\pm$ 0,4	0,5 $\pm$ 0,5	4 $\pm$ 2	5 $\pm$ 6	0,2 $\pm$ 0,4
	-1	1,1 $\pm$ 1,2	0,7 $\pm$ 1,2	10 $\pm$ 9	12 $\pm$ 9	0,1 $\pm$ 0,2
	0	1,5 $\pm$ 1,3	1 $\pm$ 0,6	18 $\pm$ 7	17 $\pm$ 11	0,3 $\pm$ 0,5
	1	1,6 $\pm$ 1,5	0,2 $\pm$ 0,3	9 $\pm$ 7	12 $\pm$ 9	0,4 $\pm$ 0,4
	2	1,9 $\pm$ 2,3	0,3 $\pm$ 0,6	7 $\pm$ 7	25 $\pm$ 15	1 $\pm$ 0,9
	3	1,4 $\pm$ 1,5	0,4 $\pm$ 0,5	4 $\pm$ 3	14 $\pm$ 9	1,4 $\pm$ 0,6
	4	1,1 $\pm$ 1	0,3 $\pm$ 0,5	4 $\pm$ 3	13 $\pm$ 10	1,1 $\pm$ 0,4
	5	0,8 $\pm$ 1,2	0,4 $\pm$ 0,7	4 $\pm$ 5	7 $\pm$ 7	0,6 $\pm$ 0,5
	6	0,5 $\pm$ 0,5	0,2 $\pm$ 0,3	4 $\pm$ 2	7 $\pm$ 6	0,2 $\pm$ 0,3
Gr. III	-2	0,4 $\pm$ 0,5	0,7 $\pm$ 0,8	6 $\pm$ 4	5 $\pm$ 4	0,1 $\pm$ 0,3
	-1	1 $\pm$ 0,9	0,8 $\pm$ 0,9	11 $\pm$ 5	10 $\pm$ 5	0,1 $\pm$ 0,2
	0	1,5 $\pm$ 1,3	1,1 $\pm$ 1	17 $\pm$ 4	18 $\pm$ 9	0,3 $\pm$ 0,5
	1	2,5 $\pm$ 1,1	0,8 $\pm$ 0,6	12 $\pm$ 4	12 $\pm$ 7	0,5 $\pm$ 0,9
	2	1,3 $\pm$ 1,1	0,9 $\pm$ 0,9	8 $\pm$ 5	8 $\pm$ 6	0,4 $\pm$ 0,7
	3	0,8 $\pm$ 1,1	0,4 $\pm$ 0,6	5 $\pm$ 4	6 $\pm$ 5	0,3 $\pm$ 0,5
	4	0,3 $\pm$ 0,5	0,5 $\pm$ 0,8	6 $\pm$ 6	7 $\pm$ 5	0,2 $\pm$ 0,3

Tabelle X : Inkremente mononukleärer Zellen der drei Versuchsgruppen auf den Beginn der Abstoßungstherapie (Tag 0) synchronisiert (Gruppe I : n=4 , Gruppe II und III je n=5) .

Abbildung 7: siehe folgende Seite

Inkremente mononukleärer Zellen der drei Versuchsgruppen
(Gr. I : 0 ———, Gr. II : ALG — — —, Gr. III : CsA ·····)
synchronisiert auf den Beginn der Abstoßungstherapie (Tag 0)



man das Maximum von 2,5 bereits am Tag 1 und anschließend den schnellsten Rückgang.

Bei den Lymphoblasten ist nur bei Gruppe I am Tag 1 noch ein Anstieg zu verzeichnen, ansonsten nehmen sie ab. Durch ALG werden sie am stärksten unterdrückt.

Ähnliches gilt für die Lymphozyten. In Gruppe I wächst ihr Anteil in der Niere noch bis Tag 2. Durch Immunsuppression werden sie sofort reduziert und zwar am nachhaltigsten durch ALG.

Die Monozytose im Transplantat erreicht bei den nicht immunsupprimierten Tieren den Höhepunkt ebenfalls am Tag 2 und geht zum Tag 3 kaum zurück. Unter ALG sinkt das Inkrement der Monozyten von 17 am Tag 0 auf 12 am Tag 1; am Tag 2 kommt es dann zu einer erheblichen Monozytenanreicherung im Transplantat (Inkrement : 25). In den folgenden Tagen vermindert sich ihre Zahl wieder. Der Einsatz von Ciclosporin verringert die Zahl der Monozyten in der Niere konsequent.

Deutliche Unterschiede treten auch bei den Makrophagen auf. Krescendoartige Vermehrung dieser Zellen in Gruppe I, gute Unterdrückung durch Ciclosporin. Beim ALG folgt die Dynamik der Makrophagen der der Monozyten mit einem Tag Verspätung, sprich deutliches Maximum am Tag 3.

4.4.4 Abstoßungstherapie

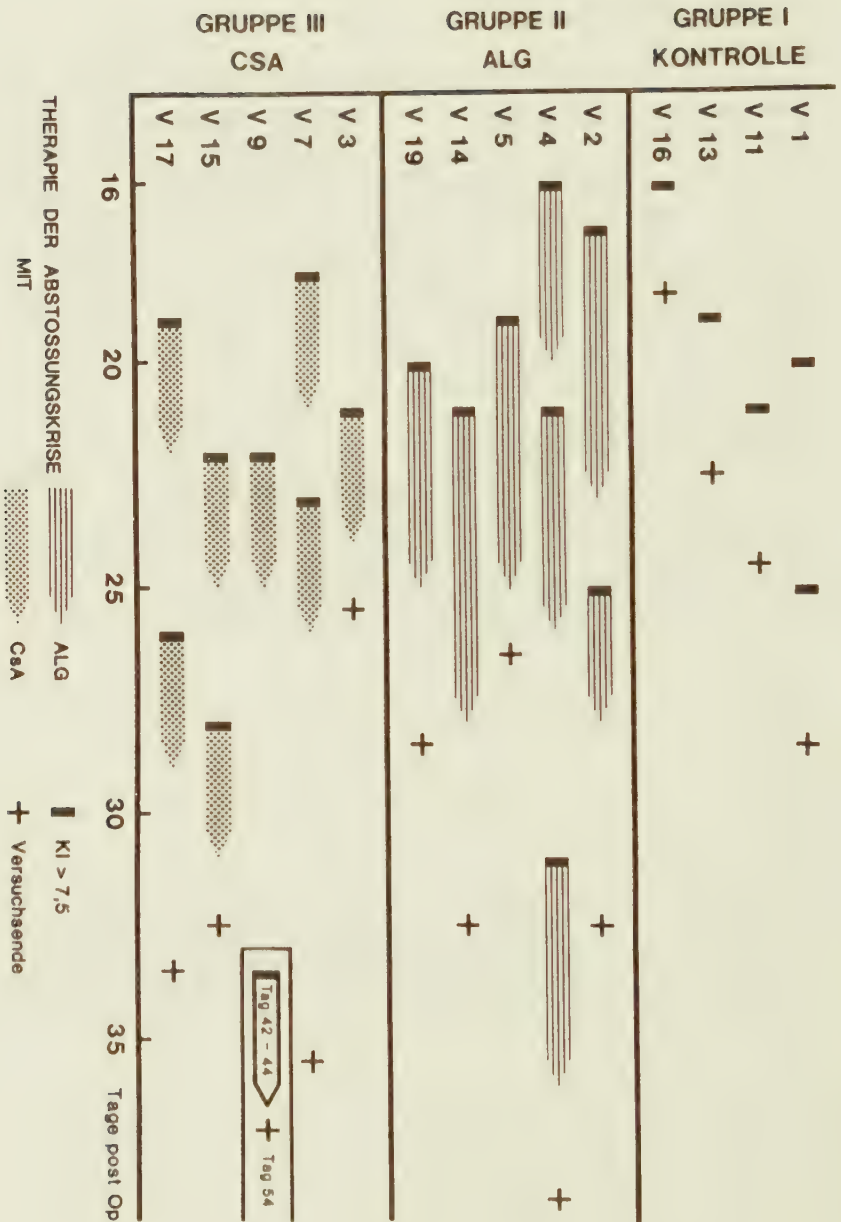
Die erste therapiebedürftige Abstoßungsreaktion trat nach Versuchsprotokoll ($KI > 7,5$) im Durchschnitt 6,5 / 2 Tage nach Basistherapie-Ende auf. Das war in Gruppe I und II der Tag 19 / 2, in Gruppe III der Tag 20 / 2 post Op. Das zweite Mal, daß das KI von 7,5 überschritten wurde, war in Gruppe II (n=3) im Median drei Tage, in Gruppe III (n=4) im Median 4,5 Tage nach Abstoßungstherapie-Ende. Die Tiere der Gruppe I starben im Durchschnitt 3 / 1 Tage nach Erreichen eines $KI > 7,5$. In den Gruppen II und III trat der Tod der Hunde im Median 4 bzw. 5 Tage nach Absetzen der letzten Abstoßungstherapie ein.

Tabelle XI gibt eine Übersicht über :

- a = Zahl der Hunde pro Gruppe
- b = Zahl der beobachteten Abstoßungskrisen pro Gruppe
- c = Durchschnittliche Zahl der Abstoßungskrisen pro Hund
- d = Insgesamt benötigte Tage Immunsuppression pro Gruppe
- e = Durchschnittliche Tage Immunsuppression pro Hund
- f = Durchschnittliche Tage Immunsuppression pro Krise

Gruppe	a	b	c=b:a	d	e=d:a	f=d:b
I	4	5	1,3	-	-	-
II	5	8	1,6	41	8,2	5,1
III	5	9	1,8	27	5,4	3,0

Hervorzuheben bei dieser Tabelle ist insbesondere die Spalte "f". Bei Immunsuppression mit Ciclosporin waren grundsätzlich drei Tage Therapie ausreichend, um die Zeichen der Inflammation (FNAB-Resultate) zu beseitigen. Als mußte dazu im Durchschnitt 5,1 Tage verabreicht werden (Schwankungsbreite 3-7 Tage).



5 DISKUSSION

5.1 Allgemeines

Tierexperimentelle Forschung sollte so angelegt sein, daß die daraus gewonnenen Erkenntnisse zumindest längerfristig für die Klinik nutzbar werden. Dies beginnt mit der Auswahl der Versuchstiere.

5.1.2 Historie

Zur Erforschung der Ciclosporin-Wirkung auf Allotransplantate wurden zu Beginn die verschiedensten Nagetiermodelle angewandt. In diesen Modellen wurden überaus positive Resultate erzielt, bis hin zu lang dauernder Immuntoleranz nach nur vorübergehender CsA-Applikation *(41,68, 70,111). Ähnlich gute Ergebnisse stellte Calne im Modell der Hundenierenallotransplantation bei ersten Versuchen fest *(16). Homann verweist hingegen darauf, daß es bei seinen Versuchen mit Hunden regelmäßig 1-2 Wochen nach Absetzen des CsA zur Transplantatabstoßung kam *(72). Solche Reaktionen sind allerdings durch erneute CsA-Therapie reversibel *(25). Aus der Klinik sind bisher ebenfalls keine Fälle von Immuntoleranz bei menschlichen Allotransplantaten unter CsA berichtet worden.

Zusammenfassung immunologischer Grundlagen nach P.J.Morris *(88) und T. B. Strom *(116) :

Auf Grund eines genetischen Kodes sind selbst primitivste Organismen in der Lage zwischen "selbst" und "fremd" zu unterscheiden. Bei allen Säugetieren ist der wichtigste Teil dieses Kodes, der "Major Histocompatibility Complex (MHC)", auf einem Chromosomenabschnitt konzentriert. Beim Menschen liegen die sogenannten HLA-Antigene (Human Leucocyte Antigen) auf dem kurzen Arm des Chromosoms Nr.6. Diese steuern die Expression der Antigene (Glykoproteine) auf der Oberfläche der meisten Zellen, mit Ausnahme der reifen roten Blutzellen. Es werden zwei Klassen von Antigenen unterschieden. Klasse I-Antigene kommen auf der Oberfläche aller Zellen vor. Klasse II-Antigene sind nur auf der Oberfläche von B-Lymphozyten,

einigen Monozyten, aktivierten T-Lymphozyten und dendritischen Zellen nachweisbar *(1), bei manchen Spezies wie Hund und Mensch auch auf Endothelzellen. Bei Gewebstransplantationen können grundsätzlich Unterschiede in beiden Antigenklassen Abstoßungsreaktionen initiieren. Es scheint allerdings möglich zu sein, daß das ausschließliche Vorhandensein von Klasse I-Antigenen einen Zustand aktiver Suppression erzeugt *(88, S. 20). Für die Nierentransplantation sind die Antigene der Klasse II von größerer Bedeutung, beim Menschen insbesondere HLA-DR *(120). Voraussetzung für jede Reaktion gegen Allotransplantate ist jedoch, daß das Antigen an der Oberfläche einer lebenden Zelle präsentiert wird.

In der Einleitung wurde über Experimente mit Ratten und anderen Nagetieren berichtet, in denen das Phänomen der Immuntoleranz gegenüber Allotransplantaten nach CsA-Therapie beobachtet wurde. Im Gegensatz zu Mensch und Hund exprimiert die Ratte auf ihren Endothelzellen keine Klasse II-Antigene. Das heißt, daß die Immunantwort gegen Klasse II-Antigene nur durch sogenannte "Passengerzellen" des Spenders induziert werden kann, z.B. durch dendritische Zellen. Da sich durch CsA eine Abstoßungsreaktion gegen Allotransplantate in allen Spezies sicher verhindern läßt, wäre es vorstellbar, daß die Passengerzellen vom Spender nach einigen Wochen CsA-Behandlung entweder nicht mehr vorhanden sind, oder die Fähigkeit zur Antigenpräsentation verloren haben. Der Wirt kann kein Klasse II-Antigen mehr als fremd erkennen und bekämpfen. Das gleiche Ergebnis - Elimination der Passengerzellen - läßt sich bei Ratten durch Vorbehandlung mit Cyclophosphamid oder Bestrahlung der Nieren erreichen *(115). Mit dieser Hypothese wäre auch erklärbar, daß solche langzeittolerierten Transplantate bei Verpflanzung in andere Tiere vom Empfängerstamm ebenfalls nicht abgestoßen werden *(111), während Tiere vom Spenderstamm dann zytotoxische Antikörper gegen den ursprünglichen Empfänger bilden. Des weiteren wäre verständlich, warum der verspätete Einsatz von Ciclosporin (ab Tag 4 post Transplantationem) wie auch zu kurze Behandlungsintervalle (von 4 Tagen) deutlich schlechtere Ergebnisse bringen *(73). Ein weiterer Schritt, nämlich das Angehen von Zweittransplantaten vom gleichen Spender nach CsA-Therapie *(42) setzt jedoch die Annahme eines Zustandes aktiver spezifischer Suppression voraus. Ein solcher Zustand könnte nach Morris *(88) durch das aus-

schließliche Vorhandensein von Klasse I-Antigenen induziert werden. Daraus folgt, daß Ergebnisse aus Nagetiermodellen wegen der unterschiedlichen Antigenpräsentation nicht auf die Klinik übertragbar sind. Sie können lediglich Hinweise auf den Wirkmechanismus von CsA geben. Die Erfolge von Calne *(16) bei Hunden (lang anhaltende Immuntoleranz gegenüber Nierenallotransplantaten nach CsA-Therapie) sind vermutlich darauf zurückzuführen, daß er für seine Versuche stark ingezüchtete Cooperstown Beagel verwendete, die genetisch eng verwandt waren *(104).

5.1.2 Versuchstiere

Nicht verwandte Bastardhunde weisen eine große Heterogenität in ihren DLA-Antigenen (Dog Leucocyte Antigen) auf, die der Heterogenität menschlicher HLA-Antigene vergleichbar ist *(125). Sie präsentieren wie Primaten Klasse-II-Antigen auf Endothelzellen. Aus diesen Gründen lassen sich die beschriebenen eigenen Ergebnisse auf die klinische Situation bei Leichennierentransplantationen übertragen. Außerdem konnte davon ausgegangen werden, daß keine genetische Verwandtschaft zwischen Spendern und Empfängern bestand *(125,3).

Damit schienen Bastardhunde für die geplanten Versuche geeignet. Der Verlauf der einzelnen Experimente zeigte auch, daß es bei jedem Hund nach Absetzen des Ciclosporin etwa innerhalb einer Woche zu einer Abstoßungsreaktion kam (siehe Abbildung 8., S.48). Dies stimmt mit den Ergebnissen von Homann *(72) überein.

5.1.3 Allgemeiner Versuchsverlauf

Gewichtsentwicklung, Überlebenszeit, Todesursache,
Versuchstierverlust

Subjektiv machten die Hunde bereits wenige Tage nach der Operation einen leistungsfähigeren und gesünderen Eindruck als frühere Kontrollen ohne Immunsuppression, oder Hunde unter ALG-Basisimmunsuppression *(8). Objektiv kam es bei den meisten Hunden in den ersten 1-2 Wochen zu einem

Gewichtsverlust von durchschnittlich knapp 1% ihres Ursprungsgewichtes. Über solche Gewichtsverluste berichtet auch Galne in einer Veröffentlichung *(19), sowie Deeg *(25). Im klinischen Einsatz von Ciclosporin ist der Gewichtsverlust auf eine zu hohe Dosierung des Immunsuppressivums zurückgeführt worden *(17).

Nach Absetzen der Basisimmunsuppression war der weitere Gewichtsverlust (im Durchschnitt noch einmal 5% bis Versuchsende) in der Gruppe III (Ciclosporin in Abstoßungskrisen) am geringsten, in Gruppe I (keine Abstoßungstherapie) am größten.

Obwohl dieses Versuchsmodell ganz ausdrücklich auf die Erforschung der mononukleären Inflammation der Alлотransplantate und nicht auf lange Überlebenszeiten ausgerichtet ist, sollen letztere hier kurz diskutiert werden.

Homann erzielte mit 20 mg/kg Ciclosporin oral für 14 Tage Überlebenszeiten von durchschnittlich 29 Tagen und liegt damit deutlich über den vergleichbaren Kontrollen (Gr. I) mit 23 Tagen. Die in Abstoßungskrisen mit ALG oder Ciclosporin behandelten Tiere überlebten das Absetzen dieser Therapie im Schnitt auch nur um 3-4 Tage, was nicht für die Effektivität dieses Regimes nach Versuchsplan zur Erhaltung der Transplantatfunktion spricht.

Das wird auch bei der Analyse der festgestellten Todesursache deutlich (siehe 4.1.3). Alle Tiere waren prämortale urämisch und zeigten Zeichen einer Abstoßungsreaktion. Diese war bei 13 von 14 Tieren die Hauptursache für die Urämie, bei einem Tier schien ein Harnstau primär ausschlaggebend zu sein (siehe 4.1.5). Bei zwei Drittel der Tiere war die Urämie auch entscheidend für den Eintritt des Todes.

Im Kontrast dazu steht die Tatsache, daß prämortale kein Tier nach den Regeln des Versuchsprotokolls immunsuppressiv behandelt wurde (Immunsuppression ab $KI > 7,5$ bis $KI < 3,5$). Lediglich bei einem Tier aus Gruppe II und bei zwei Tieren aus Gruppe III war nur ein Tag therapiefrei bevor sie verstarben, sonst lag die letzte Immunsuppression länger zurück.

Das früheste immunologisch bedingte Nierenversagen mit Todesfolge wurde bei einem Hund der Gruppe I festgestellt. Er verstarb am 9. Tag nach Absetzen der Basisimmunsuppression (V 13). Bei Abstoßungstherapie mit Ciclosporin trat dieser Fall bei V 3 am 12. Tag und in der ALG-Gruppe am

13. Tag nach Basistherapie-Ende ein.

Interessant ist die Analyse der übrigen Todesursachen in den Gruppen II und III. Beim Ableben von vier der fünf Tiere aus Gruppe II waren Infektionen von Bedeutung, bei zwei Tieren sogar ausschlaggebend. In Gruppe III sind die Verhältnisse genau umgekehrt. Nur bei einem Tier (V 15) wurde eine Infektion (Pneumonie) als Zweitursache konstatiert.

Auch in der Klinik sind unter Ciclosporin bei Dosierungen unter 18 mg/kgKG wesentlich weniger Infektionen aufgetreten als unter konventioneller Immunsuppression *(103,22) und speziell unter ALG *(90).

Das Versuchstier V 9 aus Gruppe II war nach über 50 Tagen kachektisch und verstarb während einer Infusion am akuten Herzversagen durch Lungenödem. Der gleichen Todesursache lag bei V 4 aus Gruppe III eine Pneumonie zu Grunde.

Über den Harnstau an der Blasen-anastomose bei V 7 wird in Kapitel 5.1.4 und über die Nierenbeckenblutkoagel bei V 2, V 3 und V 17 in Kapitel 5.1.5 C ausführlich diskutiert.

Hunde, die nicht länger als 16 Tage lebten, wurden aus der Wertung ausgeschlossen, wenn ihr Tod nicht auf ein immunologisch bedingtes Nierenversagen zurückzuführen war (siehe Kapitel 2). Das waren insgesamt fünf Tiere (siehe 4.4.4), alle anderen überlebten das Ende der Basistherapie um mindestens fünf Tage und kamen damit in die Auswertung.

Der vom Pathologen bei V 6 festgestellten osmotischen Nephrose liegt eine zu schnelle oder zu reichliche Infusion von Rheomakrodex Sorbit 20% zugrunde *(31). Invagination *(25) wie bei V 8 und schwere Infektion *(19) wie bei V 18 sind auch von anderen Autoren unter hochdosierter Ciclosporin-Therapie bei Hunden beobachtet worden. Operationstechnische Fehler führten zum Ausfall von V 10 (Nierenarterienthrombose) und V 12 (insuffiziente Blasen-anastomose).

5.1.4 Operationstechnische Konsequenzen

Die von früheren Versuchen (unbehandelte Kontrollen und ALG-basisimmunsupprimierte Hunde) bekannte Operationstechnik *(8) mußte unter Ciclo-

sporin in zwei Punkten geändert werden (siehe 3.2.3 c).

Erstens erwies sich die freie unfixierte Lagerung des Transplantates auf dem Omentum majus als ungeeignet. Die sonst frühzeitig einsetzende Transplantatschwellung blieb unter Ciclosporin-Basistherapie die ersten 16 Tage post Op fast ganz aus. Auch kam es während der ersten drei Wochen nicht mehr zu Umneubungsreaktionen mit lokalen Verwachsungen des Transplantates. So blieb das nicht vergrößerte Transplantat frei in der Bauchhöhle beweglich, ständig mit der Gefahr der Gefäßtorsion. Bei den täglich durchzuführenden Feinnadelaspirationsbiopsien war es nur schwer zu tasten (siehe 3.4.1b). Das Problem wurde dadurch gelöst, daß die Niere entweder retroperitoneal gelagert oder unter Zuhilfenahme des Ligamentum latum, bzw. ähnlicher Strukturen an der seitlichen Bauchwand fixiert wurde.

Die zweite Schwierigkeit trat im Zusammenhang mit der Technik der Ureter-Blasen-anastomose auf. Sie entsprach den längeren Überlebenszeiten nicht mehr. An der Durchtrittsstelle des Ureters durch die Blasenwand kam es zu Fibrosen bis hin zu metaplastischen Knochenneubildungen. Dies führte zu allmählicher Lumeneinengung mit daraus folgendem Harnstau. Eine solche Harnabflußbehinderung war ausschlaggebend für den Tod des Versuchstieres 7, neben einer zellulären Transplantatreaktion. Ab V 9 kam die Antireflux-Plastik nach Lich-Gregoir zur Anwendung *(95), die allen Ansprüchen genügte.

5.1.5 Feinnadelaspirationszytologie (FNAZ)

A Zuverlässigkeit der Feinnadelaspirationszytologie

In der Klinik wurde die Aussagekraft der FNAZ zunächst dadurch bewiesen, daß ihre Resultate mit den Analysen von enzymatisch gewonnenen Dispersaten der gleichen abgestoßenen Transplantate verglichen wurden *(128). Später wurden die FNAZ-Resultate mit der Histologie parallel durchgeführter Stanzbiopsien verglichen und 75 % *(23) bis 79 % *(55) Konkordanz festgestellt. Der Rest entfällt auf humorale, bzw. auf chronisch vaskuläre Abstoßungsreaktionen, die mit dieser Methode nicht erfaßt werden können *(23,55,56).

Im Hundemodell wurde gezeigt, daß die FNAZ bei Autotransplantaten keine falsch positiven Ergebnisse lieferte *(8). Auf der anderen Seite wurde die mononukleäre Inflammation in Hundenierenallotransplantaten mit der FNAZ immer erfaßt und führte regelmäßig zu histologisch bestätigten Abstoßungsreaktionen mit Transplantatversagen *(8,9).

Von Klinikern wird allerdings berichtet, daß die Hyperzellularität im Transplantat nicht immer eine Abstoßungstherapie erfordert, da sie zum Teil spontan reversibel ist *(23). Spontan heißt in diesem Fall, ohne zusätzliche Therapie, aber sehr wohl unter dem Regime der ständig verabreichten Basisimmunsuppression.

In den hier berichteten Versuchen konnte die hohe Aussagekraft der Methode bestätigt werden. Nach Versuchsprotokoll sollte ab einem KI von 7,5 (entspricht einer massiven mononukleären Inflammation) die Abstoßungstherapie in den Gruppen II und III beginnen. Anhand der Ergebnisse von Gruppe I kann gesagt werden, daß eine immunsuppressive Therapie zu diesem Zeitpunkt zum Transplantaterhalt erforderlich war. Drei von vier Versuchstieren der Kontrollgruppe verstarben ohne Abstoßungstherapie nur drei Tage nach Erreichen eines KI von 7,5 an histologisch gesichertem immunologisch bedingtem Nierenversagen. Bei einem Tier war die Hyperzellularität primär reversibel. Fünf Tage später war der Wert von 7,5 erneut überschritten und nach weiteren drei Tagen verstarb auch dieses Tier an Transplantatabstoßung. Das heißt, daß eine mit der FNAZ verifizierte mononukleäre Inflammation mit KI > 7,5 unbehandelt in 75 % direkt, in 25 % der Fälle mit leichter Verzögerung zur Nierenabstoßung mit Todesfolge führt. Die Spezifität in Bezug auf die sofortige Behandlungsbedürftigkeit der festgestellten Inflammation mit KI > 7,5 beträgt also 75 %.

Dabei muß gesagt werden, daß ein KI von 7,5 einem sehr späten Zeitpunkt für den Therapiebeginn entspricht. In der Regel läßt sich eine Abstoßungsreaktion bereits 1-2 Tage vorher mit der FNAZ feststellen. Ein KI von 5 steigt z.B. in den hier berichteten Versuchen in 85 % der Fälle weiter an. Die Abstoßungstherapie könnte also früher beginnen.

In einem ähnlichen Hundemodell *(39) wurden Abstoßungskrisen in nicht immunsuppressiv vorbehandelten Tieren mit i.v. Ciclosporin (9 mg/kgKG) behandelt. Die Therapie wurde bei einem KI von 5,0 begonnen. Unter diesen Bedingungen (Therapiebeginn am Tag 4-5 post Transplantationem) waren

noch 50 % der Krisen reversibel, 50 % irreversibel. Kliniker berichteten von einem mittleren KI von 5,2/1 bei Anstoßungskrisen, dabei liegt der Mittelwert bei reversiblen Reaktionen bei 4,6/2,4 und der der irreversiblen bei 8,7/5,6 *(32).

Die Sensibilität der Methode für die Erkennung zellulärer Anstoßungsreaktionen ist bei täglicher FNAZ-Kontrolle in diesen Versuchen 100 %. Das heißt, es ist kein Transplantat abgestoßen worden, ohne daß die FNAZ positiv war. Bei Betrachtung einzelner Biopsien ist die Sensibilität auch unter dem Vorbehalt, daß Nierenparenchymzellen im Aspirat vorhanden sein müssen, nur etwa 70 %. Einzelne negativ ausfallende Biopsien mußten also bei klinischem Verdacht auf Abstoßung wiederholt werden.

B Granulozyten im Aspirat

In letzter Zeit ist verschiedentlich über eine Berücksichtigung von Granulozyten bei der Inkrementberechnung im Rahmen der FNAZ diskutiert worden *(39,57).

Es liegen jedoch keinerlei begründete Hinweise für eine spezifische Funktion von Granulozyten im Rahmen der Allotransplantatabstoßung vor *(32,34,58-61,88,103,113,119). Auf der anderen Seite führt jede Diskussion über positive Inkrementwerte von Granulozyten, neben solchen von mononukleären Zellen, die Methode aus zwei Gründen ad absurdum :

1) Aus inhaltlichen Gründen: Der Methode würde das apostrophierte Korrelat, nämlich die immunkompetenten Zellen *(34,56,59,89) in Form der mononukleären Zellen entzogen, in dem allen weißen Blutzellen der gleiche mögliche Status zuerkannt würde.

2) Aus mathematischen Gründen: Bei Subtraktion zweier Zahlen-Reihen, die sich jeweils zu 100 ergänzen, addiert sich die Ergebnis-Reihe immer zu Null. Das heißt, es kann immer nur die Hälfte der Ergebnis-Zahlen-Reihe positiv sein. Damit mußten bei positivem Granulozyteninkrement mononukleäre Zellen ein negatives Inkrement haben. Dies wäre bei dem hohen Anteil der Granulozyten im Blut und der ohnehin bei jeder Biopsie vorkommenden Verunreinigung des Aspirates durch Blut nur vorstellbar als extreme Anreicherung von Granulozyten im Transplantat. Dabei kann es sich kaum um Zellen aus dem Parenchym eines funktionierenden Organs

handeln, sondern höchstens um eine Abszeßhöhle oder um eine Nekrosezone.

C Nebenwirkungen der Feinnadelaspirationsbiopsie

Die einzige Komplikation der Feinnadelaspirationsbiopsie ist die Makrohämaturie, ausgelöst durch die versehentliche Punktion des Nierenbeckens. Bei Hunden kann eine solche Blutung durch ein Ausgußkoagel zum postrenalen Transplantatversagen führen *(8,9). In seltenen Fällen sind auch in der Klinik Makrohämaturien beobachtet worden, die aber nie zum Transplantatverlust führten *(61,92,128) .

Diese Komplikation ist vermeidbar, wenn die Biopsienadel nur nach exakter Palpation streng kontrahilär in die Nierenrinde eingeführt wird *(59). Die Nierenpole sind dabei zu bevorzugen. Im Zweifelsfall ist die Punktion unter sonografischer Kontrolle durchzuführen *(113).

In diesen Versuchen kam es zu zwei stärkeren (V 2, V 3) und einer leichteren Blutung (V 17) durch die FNAB. Das Nierenbecken war lediglich bei einem der drei Tiere geringfügig erweitert (Harnstau durch Nierenbeckenblutkoagel). Es mußte kein Transplantatausfall primär auf eine iatrogene Makrohämaturie zurückgeführt werden.

Eine ganz andere Frage ist, ob die tägliche FNAB mit der nur bei Hunden dazu notwendigen Kurznarkose nicht eine Abnahme der Nierenleistung begünstigt haben könnte. Dieser spekulative Aspekt läßt sich nicht mit Sicherheit klären, ist jedoch in Zusammenhang mit der im Literaturvergleich kurzen Überlebenszeit der Versuchstiere allemal diskussionswürdig.

Eine verstärkte immunologische Reaktion des Empfängers gegen das Transplantat durch direkten Kontakt "Antigen-erkennender-Zellen" mit Nierenparenchymzellen infolge von Mikroverletzungen durch die Feinnadelbiopsie kann als Mechanismus zur Beeinträchtigung der Nierenfunktion ebenfalls ausgeschlossen werden. Häyry konnte zeigen *(58), daß Nierenparenchymzellen des Spenders von den das Nierentransplantat infiltrierenden zytotoxischen Zellen nicht angegriffen werden.

Beim Menschen ist eine Verschlechterung der Transplantatfunktion durch die Feinnadelaspirationsbiopsie bisher nicht beobachtet worden *(23,56,60,32).

5.1.6 Histopathologie der Nierentransplantate

In unbehandelten Kontrolltieren *(9) war eine vorwiegend zelluläre, in ALG-Basisimmunsupprimierten Hunden *(8) eine stärker humorale Reaktion des Immunsystems gegen das Transplantat festgestellt worden. Das ALG wurde dabei kontinuierlich bis zum Versuchsende verabreicht, allerdings in eher niedriger Dosierung. Diese Ergebnisse beweisen einerseits die Bedeutung der mononukleären Zellen bei Initiierung und Fortgang allogener Abstoßungsreaktionen, andererseits die selektive Möglichkeit des ALG, diesen Teil des Immunsystems zu unterdrücken.

Die Abstoßungsreaktionen der Kontrollgruppe dieser Versuche (Gr. I), die nach durchschnittlich 10 Tagen immunsuppressionsfreier Zeit wirksam wurden, waren überwiegend zellulärer Natur. Die Ausnahme bildet V 16 mit der kürzesten Überlebenszeit dieser Versuche (18 Tage) und der einzigen beobachteten akuten humoralen Abstoßung. Die Transplantate der in Abstoßungskrisen mit ALG behandelten Tiere (Gr. II) zeigen im Verhältnis dazu eine stärkere Beteiligung des humoralen Immunsystems. Damit wird eine deutliche Analogie dieser beiden Gruppen zu den oben zitierten Ergebnissen erkennbar. In Gruppe III sind die Nieren wiederum überwiegend zellulär abgestoßen, mit Ausnahme einer kombinierten Abstoßungsreaktion.

Ein Rückgriff auf die Grundlagen der immunologischen Reaktion gegen vasculäre Allotransplantate *(88,116) soll dem Verständnis dieser Resultate dienen:

Es gibt einen spezifischen und einen unspezifischen Teil des Immunsystems. Die spezifische Reaktion wird unterteilt in eine zelluläre, vermittelt durch zytotoxische T-Lymphozyten (ZTL) und eine humorale, vermittelt durch B-Lymphozyten, die Antikörper bilden. Die humorale Antwort ist allerdings I-Zell abhängig. Wie auch die ZTL-Aktion wird sie durch Mediatorsubstanzen von Helfer-T-Lymphozyten (HTL) angeregt.

An der unspezifischen Reaktion sind Makrophagen und natürliche Killerzellen beteiligt. Gesteuert werden sie durch Lymphokine, die von bestimmten, an der spezifischen Reaktion beteiligten Zellen produziert werden. Die Aktivität dieser unspezifischen Zellen konnte in vitro gezeigt werden. Es ist allerdings nicht klar, welche Bedeutung ihnen bei

der Transplantatabstoßung zukommt. Möglicherweise agieren sie im Rahmen einer Reaktion vom verzögerten Typ und bedingen so die Langzeitschäden am Transplantat.

Die unbeeinflusste Abstoßungsreaktion gegen allogene Transplantate läuft folgendermaßen ab:

Allogene Klasse I und Klasse II Antigene werden in Nierentransplantaten von Passenger-Leukozyten, dendritischen Zellen oder z.B. bei Mensch und Hund von Endothelzellen präsentiert. Durch Kontakt von HTL mit allogenen Klasse II-Antigenen und von ZTL mit Klasse I-Antigenen wird die Abstoßungsreaktion initiiert *(33). HTL entlassen ein Makrophagen stimulierendes Lymphokin, welches Makrophagen dazu veranlaßt, Interleukin I freizusetzen. Interleukin I regt HTL zur Bildung von Interleukin II (IL 2) an, welches HTL und ZTL nach Antigenkontakt zur Proliferation veranlaßt. Außerdem bewirkt IL 2 die Produktion von Gamma-Interferon zur Makrophagenaktivierung und eines B-Zell-Wachstumsfaktors, der die Proliferation von Antigen-aktivierten B-Zellen stimuliert. B-Zellen erzeugen dann spezifische Antikörper. Sowohl diese Antikörper als auch die in großer Zahl gebildeten spezifischen ZTL richten sich gegen Endothelzellen. Da die ZTL ebenso an Klasse I-Antigen binden können, welches auf allen Zellen vorkommt, greifen sie auch alle diese anderen Zellen, z.B. Tubuluszellen und Glomerulumzellen an.

Zurück zu dem zu diskutierenden Befund, daß bei ALG-immunsupprimierten Hunden der Anteil der humoralen Reaktion an der Abstoßung größer ist. Am wahrscheinlichsten scheint eine zytotoxische Wirkung des ALG zu sein, die stärker die zelluläre als die humorale Immunantwort betrifft *(14, 83,86,130). Dies konnte auch in den oben zitierten Experimenten *(8,9) sowohl im Blut als auch mit Hilfe der Feinnadelaspirationszytologie im Transplantat nachgewiesen werden. Das heißt, es werden vorwiegend die T-Lymphozyten eliminiert. Die B-Lymphozyten werden weitgehend verschont und können Antikörper produzieren. Für die notwendige Stimulation der B-Zellen durch HTL sind vermutlich weit weniger T-Zellen erforderlich, als für eine wesentliche Beeinträchtigung des Transplantates durch ZTL.

Der Wirkmechanismus des Ciclosporin beruht darauf, daß es die Freisetzung des IL 2 hemmt *(15). Damit sind beide Teile des spezifischen und

das unspezifische Immunsystem außer Kraft gesetzt. Wird CsA abgesetzt, nehmen alle Teile ihre Aktivität wieder auf. Es resultiert ein histologisches Bild der Abstoßung, welches dem unbehandelten Tiere entspricht, mit einer überwiegend zellulären Reaktion. Eine Ausnahme bildet die frühe akute humorale Abstoßung in V 16. Sie stellt die schnellste Form einer immunologischen Reaktion gegen Allotransplantate dar.

5.2 Basisimmunsuppression

5.2.1 Peripheres Blutbild

Bedingt durch das Trauma der Operation kommt es zu dem Abfall aller Parameter des roten Blutbildes, auch ohne daß es intraoperativ zu größeren Blutverlusten gekommen wäre. Unter täglicher Applikation von CsA bis Tag 13 einschließlich, bleiben diese Werte dann konstant *(25). Damit unterscheiden sich die Ergebnisse in positiver Weise von denen ALG-basisimmunsupprimierter und unbehandelter Hunden. Diese zeigen, bedingt durch Urämie und nachlassende Erythropoetinsyntheseleistung der Niere *(110), einen weiteren starken Rückgang der Erythrozytenzahl *(9). Der in den hier berichteten Versuchen beobachtete weitere Abfall ab Tag 14 ist vermutlich auf beginnende Abstoßungsreaktionen *(9) zurückzuführen. Die Leukozytose unter Ciclosporin-Basisimmunsuppression ist aus Hundeversuchen *(25) und Klink bekannt *(46). Der Rückgang des Anteils mononukleärer Zellen im Differentialblutbild während der ersten Versuchstage steht im Zusammenhang mit der postoperativen Leukozytose, speziell der Granulozytose. Das heißt, daß es nicht zu einem Abfall dieser Populationen kommt, sondern zu einer starken Zunahme der anderen. Dadurch ist eine relative Verschiebung bedingt. Anders liegen die Verhältnisse nur bei Lymphoblasten und Plasmazellen. Sie nehmen vermutlich unter der immunsuppressiven Wirkung von CsA leicht ab, z.B. durch Fortfall des spezifischen Proliferationsreizes in Form des IL 2 *(15). Der relativ hohe Anteil von Plasmazellen präoperativ ist auf die kurz vorher durchgeführte aktive Immunisierung der Hunde (siehe 3.1) zurückzuführen. Häyry berichtet bei menschlichen Transplantatempfängern über eine ausgeprägte Bluteosinophilie *(62) unter CsA-Solo-Therapie im peripheren

Blut. Nach seinen Diagrammen hatte er an den Tagen 4-6 Gesamtleukozytenzahlen von $8 \times 10^9 / l$ und Eosinophile mehr als $10 \times 10^9 / l$. Selbst bei einem Druckfehler um eine Zehnerpotenz entspricht das einem Anteil von über 10%. In den hier berichteten Versuchen ist keine solche Anreicherung eosinophiler Zellen aufgefallen. Der Verlauf dieser Zellen im Differentialblutbild war so unauffällig, daß auf ihre tabellarische Erfassung verzichtet wurde. Sie erreichen am 6. Tag das Maximum von 4,5 % und liegen dann bis Tag 16 zwischen 2 und 3 %. Auch bei anderen Experimenten mit Hunden wurde unter Ciclosporin keine nennenswerte Abweichung dieser Zellen festgestellt. Nur bei anlaufenden Abstoßungsreaktionen traten sie vermehrt im Blut auf *(39). Es liegt nahe zu vermuten, daß es sich bei der von Häyry beobachteten Bluteosinophilie eben um eine solche beginnende Abstoßungsreaktion handelte. Dies deshalb, weil CsA die ersten 3 Tage i.m. (17 mg/kgKG) verabreicht wurde *(62). Schon von ersten pharmakologischen Studien ist bekannt *(81), daß es nach i.m. Injektion von Ciclosporin nicht zu ausreichenden Blutspiegeln kommt.

5.2.2 Serumanalyse : Elektrolyte, harnpflichtige Substanzen, Ciclosporin-Spiegel

Der postoperative Kaliumanstieg dürfte durch die intraoperativ erhöhte Hämolyserate bedingt sein *(107). Die Nierenfunktion war durch das Operationstrauma vorübergehend eingeschränkt, womit die leichte Verdünnungs-Hyponatriämie zu erklären ist.

Für die plateauartig erhöhte Retention der harnpflichtigen Substanzen bieten sich verschiedene Erklärungsmöglichkeiten an :

1. Vorschädigung des Transplantates durch die Operation
2. Akute Tubulusnekrose
3. Insuffizienz des Transplantates, die Funktion von zwei Nieren sofort voll zu übernehmen
4. Katabole Stoffwechsellage
5. Immunologisch bedingte Abstoßungsvorgänge
6. Nephrotoxizität von Ciclosporin

Eine gewisse Vorschädigung der Niere durch die Transplantation ist sicher in keinem Fall ganz von der Hand zu weisen. Zunächst die Kühlung des Organs während der Implantation nicht immer optimal ist. Andererseits setzte die Diurese bei zehn von vierzehn Hunden bereits intraoperativ voll ein, bei den restlichen vier Hunden innerhalb der nächsten 12 Stunden. Damit ist eine schwere akute Tubulusnekrose mit Anurie ebenfalls ausgeschlossen. Nach autologer Nierentransplantation mit Nephrektomie der anderen Niere sind die Kreatinin- und Harnstoffwerte auch erhöht *(9). Dies mag als Hinweis für die Hypothese unter Punkt 3 angesehen werden. Bezüglich der erhöhten Harnstoffwerte spielt auch die katabole Stoffwechsellaage nach der Operation eine Rolle *(49,107). Wie in 4.4.1 berichtet, verlieren die Hunde während der ersten 2 Wochen 10 % ihres Körpergewichtes (siehe auch 5.1.3).

Die Punkte 5 und 6 werden im nächsten Abschnitt diskutiert.

Die im Serum von 20 Hunden mit Hilfe eines Radioimmunoassay *(26) gemessenen Ciclosporin-Spiegel unterliegen starken Schwankungen. Es ist kein auslösender Zusammenhang für diese Unterschiede erkennbar. Am wahrscheinlichsten ist ein Einfluß der Nahrungsaufnahme auf die Resorption der lipophilen Droge im Dünndarm *(77). Kliniker erklären die wechselnde Dosis-Spiegel-Beziehung beim Menschen *(79) auf die gleiche Weise *(80). Außerdem stellten sie eine steigende Spiegel-Dosis-Beziehung während der ersten Wochen nach Transplantation fest *(79). Dies ist zum einen auf den großen Verteilungsraum von 8,4 L/kgKG *(77) und dessen langsame Auffüllung zurückzuführen. Der große Verteilungsraum beruht auf der Anreicherung des Medikamentes in Leber, Pankreas, Fett und an Membranlipiden *(102), sowie der Auffüllung des enterohepatischen Kreislaufs *(78). Zum anderen wird eine adaptiv steigende Resorption vermutet. Dies deshalb, weil die Ciclosporin Spiegel bei Zweitanwendung des Immunsuppressivums nach längeren Pausen schneller ansteigen *(103).

Eine weitere Beobachtung bezüglich der Ciclosporin-Blutspiegel/Dosis-Relation von Keller und Mitarbeitern *(79) ist hochinteressant im Zusammenhang mit der viel diskutierten Nephrotoxizität der Substanz. Diese Relation mit der Einheit ng/ml/mg beträgt am 2. Tag post Op etwa 0,5. Innerhalb von 2 Wochen steigt sie bei primär funktionierenden Nieren auf 1,7, bei Patienten mit akutem Nierenversagen lediglich auf 0,9 an.

Daraus wird auf einen positiven Einfluß der Nierenfunktion auf die Bioverfügbarkeit von Ciclosporin geschlossen.

Das Protokoll der Europäischen Multicenter Studie über CsA* (35) sah vor, nur Patienten mit guter primärer Diurese in die Studie aufzunehmen. Der Grund dafür war, daß nach ersten klinischen Versuchen eine Nephrotoxizität der Droge vermutet wurde *(17), von der man annahm, daß sie bei guter Diurese zu vernachlässigen sei *(18).

Die oben zitierten Ergebnisse könnten ein Hinweis darauf sein, daß die schlechteren Ergebnisse mit CsA bei primär anurischen Patienten nicht nur auf eine nephrotoxische Komponente, sondern möglicherweise auch auf einer insuffizienten Immunsuppression bei mangelhafter Resorption, bzw. Bioverfügbarkeit, beruhen. Die unvollständige Immunsuppression führt ihrerseits über latente oder manifeste Abstoßungsreaktionen zur Verschlechterung der Transplantatfunktion und mündet damit in einen circulus vitiosus ein. Über einen erfolgversprechenden Ausweg, nämlich das Umstellen auf Azathioprin und Methylprednisolon, wird in vielen Publikationen berichtet *(21,35,38). Eine Alternative dazu wäre eventuell die rechtzeitige Dosissteigerung von Ciclosporin *(79) oder die zusätzliche Gabe von niedrig dosierten Kortikosteroiden *(114).

Der therapeutische Dosisbereich von Ciclosporin liegt bei Menschen während der ersten 2 Monate post Transplantationem zwischen 100 und 250 ng/ml *(77). Dieser Bereich wurde bei den Messungen im Rahmen dieser Versuche nicht unterschritten. 80 % der Meßwerte lagen im human-toxischen Bereich oberhalb 250 ng/ml. Es scheint jedoch unwahrscheinlich, daß Hundenieren vergleichbar empfindlich auf höhere Ciclosporinspiegel reagieren wie menschliche Nierentransplantate. In der Literatur wird bei Tieren im Dosisbereich bis 20 mg/kgKG nicht über eine Nephrotoxizität der Droge berichtet *(103).

5.2.3 Feinnadelaspirationszytologie

Der in den ersten Wochen unter Ciclosporin-Therapie zu beobachtenden mononukleären Inflammation im Transplantat wird von den meisten Arbeitsgruppen keine Bedeutung im Sinne einer Abstoßungsreaktion beigemessen

*(16,42,48). Die höheren Kreatininwerte der Ciclosporin behandelten Nierenallotransplantatempfänger gegenüber konservativ behandelten, werden auf eine nephrotoxische Komponente der Droge zurückgeführt *(22,53). Erstens weil die erhöhten Werte dosisabhängig sind, zweitens weil sie nach Umstellen auf Azathioprin absinken.

Zwei Erkenntnisse veranlassen diesen Komplex zu überdenken:

Calne bemerkte *(20), daß die Biopsien von normal funktionierenden Nieren unter Ciclosporin keine mononukleären Infiltrate zeigen. Kahan et al. erkannten, daß sich der durchschnittliche Kreatininspiegel proportional zum Grad der HLA-Disparität ihrer Patienten verhält und nicht zur verabreichten Dosis von Ciclosporin *(77). Daraus kann der Schluß gezogen werden *(77), daß die ständig erhöhten Kreatininspiegel unter CsA zum Teil auf eine chronische Schädigung der Transplantate durch subklinisch verlaufende Abstoßungsreaktionen zurückzuführen sind.

Diese Schlußfolgerung ist sowohl mit der Feststellung vereinbar, daß es unter Ciclosporin vor allem bei schlecht funktionierenden Transplantaten zu Kreatininanstiegen kommt, als auch mit dem häufig apostrophierten Korrelat der Ciclosporin-Nephrotoxizität, nämlich der schaumigen *(32, 62) Degenerationen von Tubuluszellen. Nur wäre dann letzteres einer schleichenden zellulären Abstoßungsreaktion und nicht der Nephrotoxizität des Ciclosporin zuzuschreiben.

In den hier berichteten Versuchen steigt der Mittelwert des KI an bis Tag 7 und fällt bis Tag 14 wieder ab (1,2->3,7->2,3). Es ergibt sich keine Korrelation der KI-Mittelwertkurve zu den Kurven anderer beobachteter Parameter.

Bei Einzelanalysen dieser Versuche ergab sich aber ein hochsignifikanter Zusammenhang zwischen Anstieg des KI als Maß für die mononukleäre Inflammation und einem Anstieg des Kreatinin mit 1-2 Tagen Verspätung. Zur gleichen Zeit traten auch die vakuolisierten Tubuluszellen im Aspirat auf. Diese Vorgänge waren innerhalb von 3-7 Tagen in der gleichen Reihenfolge spontan reversibel, ohne daß an der Dosierung des Ciclosporins etwas geändert wurde. Beim Versuchstier 4 zogen sich diese Vorgänge bis zum Ende der Basisimmunsuppression hin (letzte Applikation des CsA am Tag 13) und führten direkt in die erste Abstoßungskrise. Demnach würde es naheliegen, daß die teilweise beobachteten Störungen der Transplantatfunktion mit Kreatininanstieg nicht auf einer nephrotoxischen Wir-

kung, sondern auf schleichenden zellulären Abstoßungsreaktionen beruhen. Das Ausmaß der gesamten mononukleären Inflammation unter 14-tägiger Basistherapie entspricht im Durchschnitt des Beobachtungszeitraumes (Tag 0-16) dem unbehandelten Kontrolltiere am Tag 2 *(9). Dies gilt auch für die einzelnen Zellarten, mit Ausnahme der B-Zellreihe. Das mittlere Inkrement der Plasmazellen liegt mit 0,7 mehr als doppelt so hoch wie in unbehandelten Kontrollen mit 0,3. Dies ist kaum nur durch eine relative Verschiebung erklärbar, zumal nicht am Tag 2. An diesem Tag verhalten sich die Inkremente von Ciclosporin behandelten Hunden zu unbehandelten wie 4:1 *(9).

Monozyten sind die vorherrschende Zellart im Inkrement. Ihr Anteil macht im Durchschnitt des Beobachtungszeitraumes über 55 % des mit der FNAZ festgestellten mononukleären Infiltrates aus, gefolgt von 33 % Lymphozyten und rund 10 % B-Zellen und Blasten. Makrophagen wurden wegen minimalem Vorkommen (regelmäßig < 0,2 Zellen im Inkrement) mit den Monozyten zusammengefaßt.

Beim Menschen findet sich eine vergleichbare Gesamtinflammation des Transplantates *(62). Auch die B-Zell Inkremente liegen unter CsA deutlich höher als bei konventionell therapierten Patienten. Vorherrschende Zellart sind allerdings die Lymphozyten, gefolgt von Monozyten *(62, 34). Durchschnittlich wurden während der ersten Wochen 0,5 % Makrophagen registriert *(62). Die erhöhten B-Zell Inkremente korrelieren gut mit den ebenfalls erhöhten Serum-Immunglobulinspiegeln unter Ciclosporin-Solo-Therapie *(21) gegenüber konservativ therapierten Patienten. Durch die in letzter Zeit bevorzugte Kombination von CsA mit niedrig dosierten Kortikosteroiden *(118) gingen die erhöhten Immunglobulinwerte zurück *(21). Erklärbar ist dieser Sachverhalt wiederum am ehesten durch eine schleichende Abstoßungsreaktion, diesmal humoraler Natur, unter nicht vollständiger Immunsuppression. Daß auch die Kreatininwerte bei kombinierter Therapie sinken *(118), könnte allerdings sowohl an der wirksameren Immunsuppression als auch am Ciclosporin sparenden Effekt der Kombination *(118) liegen.

5.3 Kontinuierliche Betrachtung der 2 Versuchsgruppen während Abstoßungskrisen

Die Prägnanz der Ergebnisse dieses Kapitels fällt deutlich gegenüber dem vorigen und dem folgenden Teil ab.

Für das kleine Blutbild und die Nierenretentions-Parameter gilt, daß die Zahl der zur Mittelwertbildung in einer Gruppe zur Verfügung stehenden Hunde nicht mehr ca 12 (wie im Kapitel Basisimmunsuppression), sondern 4-5 beträgt. Außerdem nimmt die Vergleichbarkeit der Tiere durch unterschiedlichen Beginn der Abstoßungskrisen ab. Aus diesem Grund werden für das Differentialblutbild und die FNAZ-Resultate alle Hunde zu einer Gruppe zusammengefaßt und nur jeweils solange berücksichtigt, bis für sie die erneute Immunsuppression begann. Lediglich die Tiere der Gruppe I sind also bis zu ihrem Ableben beteiligt. Für die Serum-Elektrolyte wurde eine Sonderlösung gewählt (siehe Kapitel 4.3.2).

Dementsprechend sind die Ergebnisse dieses Kapitels nur trendmäßig verwertbar und werden lediglich global diskutiert .

5.3.1 Peripheres Blutbild

Beim roten Blutbild fällt der starke Rückgang aller drei Parameter bei Gruppe II auf. Als Ursache dafür ist eine im Verhältnis insuffiziente Immunsuppression am wahrscheinlichsten . Bei einem Lymphozytotoxizitätstiter von 1:256 war die Dosierung von 20 mg/kgKG niedrig gewählt. In der Klinik kommen bei gleicher Dosierung Chargen mit einem Titer von 1:1024 zum Einsatz. Möglicherweise hatte das in den Versuchen benutzte ALG auch noch einen zu hohen Erythrozytotoxizitätstiter trotz vorheriger Absorption dieser Antikörper.

Über beunruhigende Anamien durch ALG-Applikation bei Hund und Mensch wird auch in der Literatur berichtet *(74). Sie werden auf haemolysierende Antikörper zurückgeführt, die trotz Absorption im Antiserum verblieben sind. Eine andere Erklärungsmöglichkeit ist eine Kreuzreaktion des ALG mit haematopoetischen Stammzellen *(36). Neben einer vorübergehenden Granulozytopenie direkt nach i.v. Injektion von ALG *(52,94) wird häufig über eine Thrombozytopenie berichtet *(14,52,95), die teilweise

zum Abbruch der Therapie zwingt *(52). Durch ALG, welches mit Hilfe von Ductus-Thoracicus-Lymphozyten gewonnen wurde, sind diese Nebenwirkungen weitgehend ausgeschaltet worden *(121).

Nach Absetzen der Basisimmunsuppression kommt es zunächst zum Rückgang der Ciclosporin bedingten Leukozytose (siehe 5.2.1). Mit Beginn der Abstoßungsreaktionen (Tag 19) steigen die Leukozyten an. Die stärkste Zunahme ist in Gruppe II (ALG) zu verzeichnen. Daran sind vor allem stabkernige und segmentkernige neutrophile Granulozyten beteiligt.

Es konnte gezeigt werden *(9), daß es nach kurzfristiger Granulozytopenie, hervorgerufen durch ALG-Injektion, zu einer erheblichen Ausschüttung von juvenilen Neutrophilen kommt. Stabkernige überschreiten bereits nach 2 Stunden ihren Ausgangswert, Segmentkernige nach 16 Stunden. Auch Monozyten erreichen präapplikative Werte im peripheren Blutbild nach 3,5 Stunden. Die ursprüngliche Gesamtleukozytenzahl wird nach 13 Stunden überschritten. Als Erklärung wäre neben einer überschießenden Neubildung bei nachlassender cytotoxischer Aktivität des ALG im Blut, eine Funktion der Zellen als Mikro- oder Makrophagen zum Abräumen der Trümmer zerstörter Zellen vorstellbar *(108). Auch eine unspezifische Stimulation dieser Zellpopulationen durch Lymphokine, die aus zerstörten Lymphozyten freigesetzt werden *(116,108), wäre denkbar.

Das Differentialblutbild bestätigt mit der Reihenfolge des Anstieges oder Maximums bestimmter Zellarten gängige Vorstellungen. Plasmablasten (überwiegend Proplasmazyten) als Repräsentanten der humoralen Antwort beginnen ihren Anstieg bereits am Tag 16 und erreichen ihr Maximum am Tag 19. Das humorale Immunsystem ermöglicht die schnellste Reaktion gegen Allogene *(88). Die freigesetzten Antikörper operieren vom Gefäßsystem aus und richten sich in erster Linie gegen das Endothel des Transplantates *(116).

Der Anstieg der Lymphoblasten ist im Blut kaum zu erkennen, 0,7 % macht ihr Anteil am Tag 20 aus. Sie sind die Vorboten der zellulären Abstoßungsreaktion und infiltrieren dementsprechend das Interstitium des Transplantates *(34). Das Maximum der reifen Zellen, der Lymphozyten, im Blut folgt 2 Tage später und ist etwas deutlicher ausgeprägt.

Monozyten, Vorläufer der Makrophagen, erreichen ihr Maximum am Tag 22. Sie sind als Abräumzellen *(108) quantitativ erst im späteren Stadium

der Abstoßung von Bedeutung.

5.3.2 Serumanalyse

Der Verlauf der Serumelektrolyte spiegelt den klinischen Verlauf sehr gut wieder. Die anlaufenden Abstoßungsreaktionen bedingen einen Nierenschaden, der durch Polyurie kompensiert wird ^{*(49)}. Die Folge ist ein leichter Elektrolytanstieg im Serum der im Rahmen der Abstoßungstherapie wieder zurückgeht. Neben einer Verbesserung der Transplantatfunktion mag auch eine bei manchen Hunden in dieser Zeit durchgeführte Flüssigkeitssubstitution eine Rolle gespielt haben ^{*(107)}. Infusionen waren z.B. zur Applikation von ALG und Antibiotika erforderlich, oder zur künstlichen Ernährung. Prämortali stiegen die Elektrolyte im Rahmen einer allgemeinen Exsikkose bei polyurischem Nierenversagen erneut an.

Bei Betrachtung der Nierenretentionsparameter wird der Effekt der immunsuppressiven Therapie nicht so deutlich. Es kommt nicht einmal zum Stillstand der Retention harnpflüchtiger Substanzen. Bei der ALG Gruppe ist lediglich eine leichte Abflachung erkennbar. Dabei muß berücksichtigt werden, daß die Harnstoffbilanz dieser Hunde durch den zytotoxisch bedingten Zelluntergang zusätzlich belastet wird. Einen echten Unterschied zur Kontrollgruppe zeigen nur die CsA behandelten Hunde.

5.3.3 Feinnadelaspirationszytologie

Entsprechend den Plasmablasten im peripheren Blut steigen die Lymphoblasten im Niereninterstitium ab Tag 16 deutlich an und erreichen das Maximum zusammen mit den reifen Plasmazellen am Tag 21. Mit 2 Tagen Verspätung, aber nicht weniger gut sichtbar, beginnt der Anstieg des B-Plasten Inkrementes und ist bereits einen Tag eher (Tag 20) beim Höchstwert angelangt. Wie im Blut, folgen dann die Lymphozyten, zuletzt die Monozyten. Die Maxima dieser Zellen sind im Interstitium wesentlich besser zu erkennen als im Blut und treten jeweils einen Tag eher auf. Die bei den anlaufenden Abstoßungskrisen festgestellten Zellanreicherungen entsprechen den Ergebnissen anderer Versuchsgruppen ^{*(8,34,58,60,62,}

127). Über die zeitliche Abfolge ihres Auftretens ist bisher nicht berichtet worden. Somit ist sowohl der sehr frühzeitige Anstieg der B-Zell-Blasten im Blut als auch der der Lymphoblasten im Interstitium bisher nicht beschrieben. Der Anstieg dieser Zellen ist als solcher bereits vor dem anderer Zellen erkennbar. Die volle Verwertbarkeit dieser Erkenntnisse erfordert jedoch die tägliche Kontrolle der Werte.

5.4 Auf Abstoßungskrisen synchronisierte Betrachtung der drei Versuchsgruppen

Durch Synchronisation der Daten auf den Beginn der Abstoßungstherapie werden sowohl die Vorgänge bis hin zu einer schweren zellulären Reaktion, als auch die spezifische Wirkungsweise der beiden angewandten Immunsuppressiva auf eine solche Reaktion prägnant hervorgehoben. Genau das war Ziel dieses Versuchsteiles und nicht eine möglichst lange Transplantat-Funktionszeit (siehe Kap. 2). Unter dem Versuchsregime, Therapie bei $KI > 7,5$ bis $KI < 3,5$, konnten im Durchschnitt knapp 2 Abstoßungskrisen pro Tier beobachtet und behandelt werden. Da die während der Krisen untersuchten Parameter innerhalb einer Gruppe in der Tendenz gleichartig abliefen, konnten sie gemeinsam betrachtet werden. So liegen den Analysen von Gruppe II je 8 und von Gruppe III je 9 Abstoßungskrisen zu Grunde. Bedingt durch die kurzen, ausschließlich KI- gesteuerten Therapieintervalle, waren die behandlungsfreien Phasen kurz. Das Entstehen der Abstoßungsreaktion konnte deshalb nur über 3 Tage unbeeinflusst von Immunsuppression dargestellt werden. Dieser Zeitraum ist ausreichend, da sich die einmal angelaufene zelluläre Abstoßungsreaktion bei völlig immunsuppressionsfreien Allotransplantatträgern schnell zuspitzt.

5.4.1 Peripheres Blutbild

Zunächst ist der Rückgang der roten Zellen, des Hämoglobins und des Hämatokrits im Blut bei der anlaufenden Abstoßungsreaktion sichtbar. Hervorgerufen wird diese "renale Anämie" durch ein immunologisch bedingtes chronisches Nierenversagen *(4). Die urämische Azidose und andere reti-

nierte Metabolite führen über eine Störung des Erythrozytenstoffwechsels zur gesteigerten Hämolyse. Unter Erythropoetinmangel und toxischen Metaboliten leidet auch die Erythrozytenneubildung im Knochenmark ⁽¹¹⁰⁾. Der Einsatz von CsA bessert die Situation sofort. ALG bewirkt ab dem 4. Therapietag einen leichten Anstieg der Erythrozytenzahlen. Da es nicht zu einem Rückgang der gemessenen harnpflichtigen Substanzen kam (Kreatinin und Harnstoff), ist als Mechanismus für die Verbesserung des roten Blutbildes eine Steigerung der Erythropoetin-Synthese am wahrscheinlichsten. Daß dieser Effekt vorübergehend auch bei dem niedrig dosierten und fraglich erythrozytotoxischen ALG (siehe 5.3.1) nachweisbar ist, kann nur als erstaunlich bezeichnet werden.

Über die abstoßungsreaktionsbedingte Leukozytose ist schon im Kapitel 5.3.1 diskutiert worden. Ebenso über die Gründe für die verstärkte Leukozytose unter ALG. Daß es nach Absetzen des Ciclosporin sofort wieder zum Anstieg der Leukozyten kommt, obwohl Ciclosporin selbst schon eine Leukozytose erzeugt (siehe 5.2.1), ist ein Zeichen für die sofort wieder anlaufende Abstoßungsreaktion. Dies ist ein erster Hinweis auf die zu kurz gewählten Therapieintervalle.

Unter dem Einfluß der beginnenden Abstoßungsreaktion sind keine signifikanten Veränderungen der mononukleären Zellen im Differentialblutbild zu erkennen. Es muß allerdings betont werden, daß die Synchronisation der Versuchsdaten auf die Verhältnisse im Transplantat und nicht auf die im peripheren Blut ausgerichtet sind. Dies führt in erster Linie zu einer prägnanteren Darstellung der FNAZ-Resultate.

Der leicht gestiegene Anteil der T- und B-Zellen wird durch ALG deutlich unter den Ausgangswert gedrückt. Eine Wirkung von Ciclosporin auf die Zellverteilung des Differentialblutbildes ist kaum erkennbar. Der Prozentsatz der B-Blasten steigt unter Ciclosporin weiter an. Monozyten werden im Blut weder durch die Abstoßungsreaktion noch durch die Immunsuppressiva beeinflusst.

5.4.2 Nierenretentionsparameter

Der Verlauf der Harnstoff- und Kreatininwerte offenbart das ganze Dilemma dieses Versuchsregimes für den klinischen Zustand der Allotransplan-

tate. Die Wirkung der Immunsuppressiva wird lediglich bei Betrachtung des täglichen Anstiegs der Retentionswerte sichtbar. Dieser geht in Gruppe II um 38 %, in Gruppe III um 45 % zurück. Dabei muß bei manchen Hunden mit sehr hohen Harnstoffwerten ein "Eigenimmunsuppressiver Effekt" in Rechnung gestellt werden *(63). Als Mechanismus wird eine Stoffwechselstörung der Lymphozyten *(110) vermutet. Es gibt vier mögliche Ursachen für diesen geringen Erfolg der Immunsuppression :

1.

Der sehr späte Therapiebeginn (siehe auch 5.1.5 A).

Ein KI > 7,5 bedeutet, daß bereits eine fortgeschrittene zelluläre Abstoßungsreaktion vorliegt *(32,128).

2.

Der frühe Abbruch der Immunsuppression bei einem KI < 3,5. Es genügte eine 3-tägige Anwendung von CsA oder eine 5-tägige ALG-Behandlung, um die Zeichen der Inflammation soweit aus den FNAZ-Resultaten zu eliminieren. Damit war aber nicht der aktivierte Zustand des gesamten Immunsystems behoben und schon gar keine Zeit zur Regeneration der geschädigten Niere gegeben.

Nach Häyry *(62) entspricht jedes KI > 3 einer behandlungsbedürftigen zellulären Abstoßungsreaktion. In der gleichen Publikation schreibt er, daß die Therapie von Abstoßungskrisen über mindestens 6 Tage durchgeführt werden muß.

3.

Das ALG war zu niedrig dosiert, bzw. sein lymphozytotoxischer Titer war mit 1:256 zu gering. In anderen Versuchen *(8) wurde gezeigt, daß die Dauieranwendung von diesem Pferd-Anti-Hund-Lymphozyten-Globulin in gleicher Dosierung ab dem 1. Tag lediglich eine Verlängerung der Transplantat-Funktions-Zeit von 7 (unbehandelte Kontrollen) auf 11 Tage bewirkt. In der Klinik kommen Chargen mit Titern bis zu 1:1024 *(121) zum Einsatz. Üblicherweise wird dieses bis zu 8 mal potentere ALG bei Abstoßungskrisen zusätzlich zur Dauerimmunsuppression verabreicht. Die Therapiedauer richtet sich u.a. nach der Verträglichkeit. Bei einem solchen Regime wird ein Abfall der Nierenretentionswerte nach etwa 4 Tagen beobachtet, eine Rückkehr zu den Werten vor Beginn der Krise nach 1-3 Wochen *(84). Es sind jedoch in Abstoßungskrisen mindestens 6 Tage Therapie erforderlich *(62,84). In der Regel wird die Therapie auf Grund

der besseren Ergebnisse auf 24 Tage ausgedehnt *(84).

4.

Bei völlig ausgesetzter Basisimmunsuppression traf nach Absetzen der Abstoßungstherapie die volle zytotoxische Potenz des Immunsystems sofort wieder auf die nicht regenerierten Transplantate. Dies mußte bereits nach kurzer Zeit zum Transplantatversagen führen.

5.4.3 Resultate der Feinnadelaspirationszytologie

A Antilymphozytenglobulin-Wirkung

Die B-Zellen erreichen ihr Maximum bei der Abstoßungsreaktion im Transplantat in den unbehandelten Kontrollen und ALG-therapierten Hunden am 2. Tag nach "Therapiebeginn". Unter ALG fällt es 30 % niedriger aus. Die Tatsache, daß der Anteil der B-Zellen im Blut bereits am 1. Tag nach Therapiebeginn deutlich reduziert ist, legt einen zytotoxischen Mechanismus des ALG innerhalb des Gefäßsystems nahe.

Das gleiche gilt, nur noch viel ausgeprägter, für die T-Zellen. Lymphoblasten erreichen in Gruppe I am Tag 1 und Lymphozyten am Tag 2 ihren Inflammationshöhepunkt. Durch ALG werden beide Populationen in Blut und Niere bereits am Tag 1 nach Therapiebeginn deutlich reduziert.

Völlig anders liegen die Verhältnisse bei den Monozyten, die in den Kontrollen bis Tag 2 ansteigen und den Makrophagen, die den Zeitpunkt der maximalen Zerstörung signalisieren und daher in den Kontrollen bis zum letzten Tag krescendoartig ansteigen. Monozyten werden durch ALG zwar primär supprimiert (-30 %), verdoppeln sich jedoch anschließend und liegen so am Tag 2 über Ausgangswert.

Aus früheren Versuchen ist bekannt *(9), daß Monozyten im Blut und Transplantat nach ALG Injektionen deutlich langsamer abnehmen als T-Zellen. Anschließend kommt es zu einer überschießenden Vermehrung, so daß die Ausgangswerte im Blut nach 3,5 Stunden und im Inkrement nach 13 Stunden überschritten werden. Sie reichern sich im Transplantat stark an. Die bisher favorisierte Erklärung für diese Erscheinung war, daß die Monozyten die allogene Niere bei zytotoxisch reduzierter T-Zell-Reaktion zur verstärkten Antigenpräsentation infiltrieren *(9). Alternativ wäre

es vorstellbar, daß die Monozyten sich auf einen spezifischen Proliferationsreiz hin vermehren und in das Transplantat einwandern. Einen solchen Reiz stellen von Lymphozyten freigesetzte Mediatorsubstanzen dar, sogenannte Lymphokine *(116), mit denen die Monozyten auch physiologisch gesteuert werden *(108). Durch ALG-Injektionen werden binnen kürzester Zeit große Mengen von Lymphozyten zerstört und ihre Inhaltsstoffe damit frei. Dies gilt natürlich auch für die zahlreichen T-Zellen im Transplantat. Die aus den vernichteten Zellen entlassenen Lymphokine führen zur Proliferation und Gewebsinvasion der Monozyten. Unabhängig von der Freisetzung solcher physiologischer Mediatoren beim Zelluntergang erfordert aber auch schon der große Anfall von Zelltrümmern die Aktivierung eines Phagensystems. Dieses System besteht im Blut aus den Monozyten als Makrophagen und den Granulozyten als Mikrophagen *(108). Beide Zellarten proliferieren stark nach ALG-Applikation.

Nach 4 Tagen ALG-Applikation nehmen auch die Makrophagen im Interstitium ab, ein Zeichen des Therapieerfolges. Die maximale Zerstörung wird durch sie am Tag 3 markiert.

Zusammengefaßt ergeben sich zur ALG-Wirkung folgende Thesen :

ALG eignet sich hervorragend zur Bekämpfung der T-Zell Reaktion gegen Allotransplantate. Das Immunsuppressivum operiert vom Gefäßsystem aus durch zytotoxische Zerstörung der Zellen. Angehörige der Plasmazellreihe werden weniger gut unterdrückt. Die Monozyten zeigen eine ALG spezifische paradoxe Proliferation, die vermutlich mit dem T-Zelluntergang in Zusammenhang steht. Die Proliferation geschieht entweder zur Kompensation, oder auf Grund einer spezifischen Stimulation, oder physiologisch zur Beseitigung der Zelltrümmer.

B Ciclosporin-Wirkung

Unter Ciclosporin nehmen Lymphoblasten, Lymphozyten und Monozyten bereits nach einem Tag Therapie ab. Die T-Zellen allerdings nicht so deutlich wie unter ALG. Das Maximum der B-Zell Inflammation liegt am Tag 1 und ist fast so hoch wie das in unbehandelten Tieren am Tag 2. Anschließend wird ihr Anteil im Inkrement schnell gesenkt. Erstaunlich ist die Tatsache, daß jeweils 1 Tag nach dem Höhepunkt der Zellen im Trans-

plantat ein solcher im Blut zu beobachten ist. Dies erweckt den Eindruck, als ob die Zellen durch Ciclosporin die Orientierung auf das Allogon verlieren und sich dann gleichmäßig verteilen würden. Dabei kame der Droge die Funktion eines omnipotenten Antigens zu.

Eine solche Umverteilung der Zellen vom Transplantat in die Peripherie ist allerdings nicht allein mit der Unterdrückung der IL 2 Freisetzung aus T-Helfer Zellen *(15) zu erklären. Dazu sei angemerkt, daß die in vitro notwendige CsA-Konzentration zur vollständigen Unterdrückung der IL-2 Freisetzung 50 ng/ml beträgt *(15). Diese Konzentration ist klinisch unwirksam, der angestrebte Wert liegt fünf mal höher *(35). In Anbetracht dieser Diskrepanz bleibt es zunächst eine Hypothese, daß die immunsuppressive Wirksamkeit von CsA in vivo allein auf der Hemmung der IL-2 Freisetzung beruht, oder ob andere Mechanismen hinzutreten. Für die Anwendung in der Zellkultur ist der Nachweis insofern erbracht, als sich die Wirkung der Droge durch Substitution von IL-2 bis zu CsA-Konzentrationen von 250 ng/ml vollständig antagonisieren läßt *(15). Für die Anwendung des Immunsuppressivums in vivo steht der Beweis noch aus.

Unabhängig davon wie Ciclosporin genau wirkt, kann zusammengefaßt festgestellt werden:

Ciclosporin hat in diesen Versuchen die schwere zelluläre Abstoßungsreaktion hervorragend supprimiert. Alle mononuklearen Zellen waren von der Wirkung gleichermaßen betroffen. Der Wirkmechanismus ist sicher nicht zytotoxisch.

6 ZUSAMMENFASSUNG

6.1 Literatur

Aus der Diskussion von Ergebnissen der Literatur anhand von Publikationen über die Grundlagen immunologischer Abstoßungsreaktionen gegen Allotransplantate wurde folgende Hypothese entwickelt :

Die wesentlich besseren Resultate von Allotransplantaten bei Nagetiermodellen gegenüber anderen Säugetiermodellen beruhen auf grundsätzlichen genetischen Unterschieden. Im Gegensatz zu anderen Säugern exprimieren Nager auf ihren Endothelzellen keine Klasse II-Antigene. Durch suffiziente Immunsuppression (z.B. mit Ciclosporin) über einen gewissen Zeitraum oder Röntgenbestrahlung oder Perfusion mit Cyclophosphamid läßt sich die Präsentation dieser Antigene durch Passengerzellen des Spenders ebenfalls verhindern. Daraus resultiert das völlige Fehlen dieses für die Fremderkennung wichtigen Liganden.

Dies erklärt die beobachtete lang dauernde Immuntoleranz gegenüber Allotransplantaten bei Nagetieren nach CsA-Therapie.

6.2 Feinnadelaspirationszytologie

1.

Die täglich durchgeführte FNAZ zeigt frühzeitig und zuverlässig den Beginn zellulärer Abstoßungsreaktionen an.

2.

Der Rückgang der mononukleären Inflammation entspricht einen Therapieerfolg. Er ist nicht mit dem Ende der Abstoßungsreaktion gleichzusetzen. Bei einem KI < 3,5 muß weiterhin von einem erhöhten Aktivitätsniveau des Immunsystems ausgegangen werden.

3.

Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen bestimmten morphologischen Veränderungen an Nierenparenchymzellen und einer möglichen nephrotoxischen Komponente der Immunsuppressiva ist nicht festgestellt worden.

4.

Bei exakter Durchführung hat die FNAZ keine relevanten Nebenwirkungen.

6.3 Ciclosporin

1.

CsA erzeugt im Hundemodell keine Immuntoleranz gegen Allotransplantate.

2.

Ciclosporin wirkt in diesem Modell zuverlässig immunsuppressiv.

3.

Keine Beobachtung stützte die Theorie, daß CsA nephrotoxisch wirkt. Es ergaben sich im Gegenteil Hinweise dafür, daß es sich bei den so erklärten Einschränkungen der Nierenfunktion unter CsA-Therapie um latente zelluläre Abstoßungsreaktionen handeln könnte.

4.

a) Unter den Bedingungen der immunsuppressiven Basistherapie unterdrückt CsA die zelluläre Inflammation der Allotransplantate wirksam. Dies betrifft alle mononukleären Zellen gleichermaßen. Die maximale Zellanreicherung ($KI=3,7$) in dieser Periode wurde am Tag 7 post Transplantation festgestellt.

b) Beim Einsatz von CsA während zellulärer Abstoßungsreaktionen kommt es zu einem schnellen Rückgang aller mononukleären Zellen im Transplantat. T-Zellen und Monozyten nehmen nach dem ersten, B-Zellen und Makrophagen nach dem zweiten Therapietag ab.

5.

Mit Ausnahme einer Leukozytose (30 % über Ausgangswert) wurden unter CsA keine spezifischen Veränderungen des Blutbildes nach der Transplantation registriert. Diese Leukozytose war deutlich geringer als geprägt als in unbehandelten oder ALG-basisimmunsupprimierten Hunden.

Beim Einsatz von CsA während zellulärer Abstoßungsreaktionen fiel auf, daß jeweils parallel zum Rückgang von T- und B-Zellen im Transplantat dieselben im Blut ansteigen.

Beobachtete Veränderungen der Serumelektrolyte und harnpflichtiger Substanzen standen ausschließlich im Zusammenhang mit der immunsuppressiven Wirkung von CsA im Sinne einer Verbesserung der Nierenfunktion.

6.

Es ist bekannt, daß CsA bereits in subklinischen Dosen die Freisetzung von IL-2 aus T-Helferzellen verhindert. Zur Erklärung der beobachteten CsA-Wirkung auf die immunkompetenten Zellen wurde zusätzlich folgende Hypothese formuliert (5.4.3 B) :

Ciclosporin wirkt als omnipotentes Antigen. Dadurch verliert die zelluläre Abwehr die Orientierung auf das Alloantigen.

Mit dieser Hypothese wird sowohl die Zellverschiebung zwischen Transplantat und Peripherie als auch die unter CsA beobachtete Leukozytose verständlich.

6.4 Antilymphozytenglobulin

1.

Der Einsatz von ALG führt zu einer sofortigen starken Reduktion der T-Zellen im Transplantat.

B-Zellen nehmen erst nach drei Therapietagen ab.

Monozyten werden primär reduziert. Anschließend kommt es zu einer vorübergehenden paradoxen Proliferation.

2.

Es ergaben sich keinerlei Hinweise für eine nephrotoxische Komponente des angewandten ALG.

3.

a) In der angewandten Dosierung war ALG nicht in der Lage die mit der nachlassenden Nierenfunktion verbundene Abnahme der drei gemessenen Parameter des roten Blutbildes aufzuhalten.

b) ALG reduziert die abstoßungsbedingte Leukozytose nur vorübergehend. Es kommt zu einer überschießenden Freisetzung von juvenilen Granulozyten und Monozyten.

c) Der Einsatz von ALG führt zu einem deutlichen Rückgang des Anteils von B- und T-Lymphozyten im Differentialblutbild.

d) Es ist vorstellbar, daß die Bilanz der harnpflichtigen Substanzen durch den ALG bedingten zytotoxischen Zelluntergang belastet wird.

4.

a) Die Versuche bestätigen die Theorie der zytotoxischen ALG-Wirkung auf

alle Leukozyten, bevorzugt auf T-Lymphozyten .

b) Zur Erklärung der ALG bedingten Granulo- und Monozytose wurden zwei Hypothesen formuliert :

I Die Zerstörung von Lymphozyten führt zur Freisetzung von Lymphokinen. Diese physiologischen Mediatoren stimulieren Monozyten zur Proliferation und lokalen Gewebsinvasion.

II Der ALG bedingte große Anfall von Zelltrümmern erfordert die Aktivierung eines Phagensystems. Dieses Phagensystem besteht aus Monozyten und Granulozyten.

6.5 Schlußfolgerungen

Die FEINNADELASPIRATIONSZYTOLOGIE ist bei regelmäßiger Durchführung eine schnelle aussagekräftige und nebenwirkungsarme diagnostische Methode zum Studium der zellulären Vorgänge im Allotransplantat.

Sie ermöglicht eine exakte Aussage über Beginn und Verlauf zellulärer Abstoßungsreaktionen, nicht jedoch über deren Ende.

CYCLOSPORIN ist ein potentes nebenwirkungsarmes oral applizierbares Immunsuppressivum, welches den zellulären und humoralen Teil des Immunsystems unterdrückt. Es eignet sich als Basisimmunsuppressivum und für den Einsatz während zellulärer Abstoßungsreaktionen.

Eine nephrotoxische Komponente der Droge scheint nach diesen Versuchen ebenso fraglich wie die ausschließliche Erklärung ihrer Wirksamkeit über den Il-2 Mechanismus.

ANTILYMPHOZYTENGLORULIN hat sich in den Versuchen bei zellulären Abstoßungsreaktionen trotz extrem niedriger Dosierung als hochwirksames T-Zell selektives Immunsuppressivum bewährt.

In Anbetracht der Tatsache, daß es nahezu frei von Nebenwirkungen ist, eröffnet sich ein weiteres Anwendungsgebiet im Zusammenhang mit den beschriebenen latenten zellulären Reaktionen unter CsA-Solo-Basis-Immunsuppression in den ersten Wochen nach der Transplantation. Eine Kombination der beiden Immunsuppressiva könnte eine Lösung sein.

7 L I T E R A T U R L I S T E

- 1 BACH, F.H., Van ROOD, J.J.
The major histocompatibility complex-Genetics and biology.
N.Engl.J.Med. 295 : 806-813, 1976
- 2 BACH, F.H., GOOSE, I.E.
Cellular basis of allograft rejection.
Transplant.Proc. 13, 1063, 1981
- 3 BALNER
Choice of animal species for modern transplantation research.
Transplant.Proc. 6, 19, 1974
- 4 BECKER, E.L.
Cornell Seminars In Nephrology.
"A Wiley Biomedical- Health publication", New York, 1973
- 5 BERGER, R., LANZER, G., MEINGASSNER, J.G., KNAPP, W.
In vitro effects of cyclosporin A (CSA) on human B cell proliferation and differentiation.
Proceedings IV International Congress of Immunology, Paris, 1980
- 6 BERNHEIM, C.
Inauguraldissertation 1984
- 7 BIEBER, C.P., REITZ, B.A., JAMIESON, S.W., OYER, P.A., STINSON, E.B.
Malignant lymphoma in CsA-treated allograft recipients.
Lancet i: 43, 1980
- 8 BLOCK, T., JARCK, H.U., HAMMER, C., BERNHEIM, C., GOCKEL, M.
Analysis of in situ Inflammation of Allogenic Canine Kidney Graft under Antilymphocyte Globulin Treatment.
Eur.surg.Res. 16 : 340-347, 1984
- 9 BLOCK, T.
Inauguraldissertation, 1984
- 10 BOREL, J.F.
Pharmacological Studies : 27-400, Sandoz Internal Report, 1976
- 11 BOREL, J.F.
Comparative studie of in vitro and in vivo drug effects on cell-mediated cytotoxicity.
Immunology 31 : 331-641, 1976
- 12 BOREL, J.F., WEISINGER, D.
Studies on the mechanismen of action of cyclosporin A.
British Journal of Pharmacology 66 : 66-67, 1979
- 13 BOREL, J.F.
The history of cyclosporin A and its significance.
-siehe *(124), S. 5-18

- 14 BRENDEL, W.
The clinical use of ALG. - Transplant.Proc. 3, 280, 1971 -
- 15 BUNJES, D., HARDT, C., ROLLINGHOFF, M., WAGNER, H.
Cyclosporine A mediates immunosuppression of primary cytotoxic T-cell responses by impairing the release of interleukin-1 and IL-2.
Eur.J.Immunol. 11 : 657-661, 1981
- 16 CALNE, R.Y., WHITE, D.J.G.
CsA - a powerful immunosuppressant in dogs with renal allografts.
IRCS Medical Science 5 : 595, 1977
- 17 CALNE, R.Y., WHITE, D.J.G., THIRU, S., EVANS, D.B., MC-MASTER, P. et al.
CsA in patients receiving renal allografts from cadaver donors.
Lancet ii : 1323-1327, 1978
- 18 CALNE, R.Y., WHITE, D.J.G., THIRU, S., EVANS, D.B., MCMASTER, P. et al.
Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 32 kidneys, 2 pancreases and 2 livers.
Lancet ii: 1033-1036, 1979
- 19 CALNE, R.Y., WHITE, D.J.G., PENTLOW, B.D., ROLLES, K. ET AL.
Cyclosporin A : Preliminary observations in dogs with pancreatic duodenal allografts and patients with cadaveric renal transplants.
Transplant.proc. 11 : 860-864, 1979
- 20 CALNE, R.Y., WHITE, D.J.G.
The use of Cyclosporin A in clinical organ grafting.
Ann.Surg. 196: 330-7, 1982
- 21 CALNE, R.Y., WHITE, D.J.G., EVANS, D.B., WIGHT, C.
Three years' experience with Cyclosporin A in clinical cadaveric kidney transplantation. -siehe *(124), S. 347-353
- 22 CANADIAN MULTICENTRE TRANSPLANT STUDY GROUP .
Randomized clinical trial of CsA in cadaveric renal transplantation
N.Engl.J.Med. 309 : 809-15, 1983
- 23 CASTRO, L.A., HAMMER, C., LAND, W., HILLERBRAND, G., GURLAND, H.J.
Clinicopathologic Evaluation of FNAB in Kidney Transplant.
Transplant.Proc. Vol. XIV, No. 1, 1982
- 24 COSTER, D.J., SHEPHERD, U.F.T., CHIN, S.OOK, T., RICE, M.S.C., JONES, B.R.
Prolonged survival of corneal allografts in rabbits treated with cyclosporin A. - Lancet ii: 688-689, 1979 -
- 25 DEEG, H.J., STORR, R., GERHARD-MILLER, L., SHULMAN, H.M., WEIDEN, P.L. et al
Cyclosporin A, a powerful immunosuppressant in vivo and in vitro in the dog, fails to induce tolerance.
Transplantation 29 : 230-235, 1980
- 26 DONATSCH, P.A., ARTSCH, E., HOMBERGER, M. et al.
A radioimmunoassay to measure CsA in plasma and serum samples.
Journal of Immunoassay, 2, 19-22, 1981

- 27 DREYFUSS, M., HÄRRT, E., HOFMAN, H., KOREL, H., PACHE, W., TSCHERTER, H.
Cyclosporin A and C. New metabolites from *Trichoderma polysporum*.
European Journal of Applied Microbiology 3 : 125-133, 1976
- 28 DUNN, D.C.
Persistent non-specific immunosuppression after a course of CsA.
Transplantation 29 : 349-351, 1980
- 29 DUNN, D.C., WHITE, D.J.G., WADE, J.
Survival of first and second kidney allografts after withdrawal of
cyclosporin A therapy.
IRCS Medical Science 6 : 464, 1978
- 30 DUNN, D.C., WHITE, D.J.G., HERBERTSON, B.M., WADE, J.
Prolongation of kidney survival during and after CsA therapy.
Transplantation 27 : 359-361, 1979
- 31 EDER, M., GEDIGK, P.
Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie und der pathologischen Anatomie
Springer-Verlag 1977, 30. Auflage
- 32 EGIDI, F., DE VECCI, A., RIVOLTA, E., CAGLIO, G., PONTICELLI, C.
Preliminary experience of fine-needle aspiration biopsy in
renal transplant recipients.
In : Renal Transplant Cytology, S. 81-87
Wichtig Editore, Milano, Italy, 1984
- 33 ENGELMAN, E.G., BENIKE, C.J., GRUMET, F.C., EVANS, R.L.
Activation of human T lymphocyte subsets: helper and suppressor
cytotoxic T cells recognize and respond to distinct histocompa-
tibility antigens.
J Immunol 127 : 2124-2129, 1981
- 34 VAN ES, A., MEYER, C.J.L.M., OLJANS, P.J., TANKE, H.J., VAN ES, L.A.
Mononuclear cells in renal allografts.
Transplantation, Vol. 37, 134-139, 1984
- 35 EUROPEAN MULTICENTRIC TRIAL (1982)
Cyclosporin A as sole immunosuppressive agent in recipients of
kidney allografts from cadaver donors.
Lancet 2 : 57-60
- 36 FIELD, E.O., GIBBS, J.E.
Cross reaction of ALS with haemopoietic stem cells.
Nature Lond. 217 : 561, 1968
- 37 FLOERSHEIM, G.L.
Pharmacologic immunosuppressive agents.
Transplant.Proc. 12, 315, 1980
- 38 FRENCH, M.E., THOMPSON, J.F., HUNNISET, A.G.W., WOOD, R., MORRIS, P.J.
Impaired Function of Renal Allografts During Treatment With
Cyclosporin-A : Nephrotoxicity or Rejections ?
Transplant.Proc. Vol. XV, No. 1, 1983

- 39 GEBHARD, F.
Inaugural dissertation 1985
- 40 GRABAR, P.
Some critical remarks and suggestions about ALS
Transplant.Proc. 4, 407, 1972
- 41 GREEN, C.J., ALLISON, A.C.
Extensive prolongation of rabbit kidney allograft survival after
short-term cyclosporin A treatment.
Lancet i : 1182-1183, 1978
- 42 GREEN, C.J., ALLISON, A.C., PRECIOUS, S.
Induction of specific tolerance in rabbits by kidney allografting
and short period of cyclosporin A treatment.
Lancet ii : 123-125, 1979
- 43 GREEN, C.J., KEMP, E., KEMP, C.
The effects of CsA, ticlopidine hydrochloride and cobra venom fac-
tor on the hyperacute rejection of discordant renal xenografts.
Journal of Investigative & Cell Pathology 3, 415-415, 1979
- 44 GREEN, C.J., KEMP, E. and G., et al.
Prolongation of concordant renal xenografts in rabbit recipients by
a short course of cyclosporin A treatment.
-siehe *(123), S. 155-164
- 45 GREEN, C.J.
Immunosuppression with cyclosporin A : A review.
Histopathology, Vol. 4 : 157-174, 1981
- 46 GREEN, C.J.
Cyclosporin A
In : SALAMAN, J.R. : Immunosuppression, S. 75-109
MTP Press limited, Lancaster 1984
- 47 GROTH, C.G.
The value of ALG and ATG in clinical renal transplantation -
recent european experience.
Transplant.Proc. 13, 460, 1981
- 48 GURLAND, H.J., BRUNNER, H.P., VON DEHN, H. et al.
Combined report on regular dialysis and transplant in Europe, 1973
Proceed. of the Europ. dialysis and ass. Vol. 11, 2, 1974
- 49 HADORN, W., ZÖLLNER, N.
Vom Symptom zur Diagnose.
Verlag S. Karger, 7. Auflage 1979
- 50 HAFSSLEIM, H.C., PTERCE, V.C., LEE, H.M., HUME, D.M.
Leukopenia and azathioprine in renal homotransplantation.
Surgery 71 : 599, 1972

- 51 HALL, I.G., MORRIS, B.
Effect of x-irradiation of the popliteal lymph-node on its output of lymphocytes and immunological responsiveness.
Lancet 1 : 1077, 1964
- 52 HALLORAN, P.F., LIEN, J., APRILE, M., WHITE, N.
Preliminary results of CsA and Minnesota antilymphoblast globulin.
Transplant.Proc. 14, 627, 1982
- 53 HAMILTON, P.V., EVANS, D.B., THIRU, S.
Toxicity of Cyclosporin A in organ grafting
-siehe *(124), S. 393-412
- 54 HAMMER, C., KREBS, G., CHAUSSY, C., PFEIFER, K., SCHMIDT, K., LAND, W., BRENDL, W.
Mitigation of hyperacute rejection by antilymphocyte globulin.
Transplant.Proc. 1, 31, 1979
- 55 HAMMER, C., LAND, W., HILLEBRAND, G., RÖSSLER, E.
Fine needle biopsy and aspiration cytology as control for renal rejection episodes.
Surg.Forum 4, 17, 1982
- 56 HAMMER, C.
Kontrolle von Nierentransplantatabstoßungen - Anwendung der FNAZ.
Münch. med. Wschr. 124, Nr.43, 929-931, 1982
- 57 HAMMER, C., HÄYRY, P., WILLEBRAND, v.E. et al.
International workshop of FNAB in Munich, August 1982
- 58 HÄYRY, P., SOOTS, A., WILLEBRAND, v.E., WIKTOROWICZ, K.
Composition, Subclass Distribution, and Preliminary Analysis of the Functions of Host Inflammation Cells Infiltrating Renal Allografts During Rejection.
Transplant. Proc., Vol XI, No. 1, 1979
- 59 HÄYRY, P., WILLEBRAND, v.E.
Practical guidelines for fine needle aspiration biopsy of human renal allografts.
Ann. Clin. Res. 13, 288, 1981
- 60 HÄYRY, P., WILLEBRAND, v.E.
Monitoring of renal allograft rejection with FNAC.
Scand. I. Immunol. 13, 87, 1981
- 61 HÄYRY, P., WILLEBRAND, v.E.
Cytologic evaluation of in situ inflammatory response of rejection in human renal transplantation.
Transplant.Proc. 13, 81, 1981
- 62 HÄYRY, P., AHONEN, J., WILLEBRAND, v.E., EKLUND, B., HÖCKESTEDT, K. et al.
Effect of Cyclosporin A on the in Situ Inflammatory Response of Human Renal Allograft Rejection.
Scand. I. Immunol. 16, 135-149, 1982

- 63 HÄYRY, P., WILLEBRAND, v. E., TASKINEN, E., HÖCKERSTEDT, P., AHONEN, J.
Is uremia immunosuppressive in renal transplantation ?
Transplantation 34 , 268-272, 1982
- 64 HECKNER, F.
Praktikum der mikroskopischen Hämatologie, 5. Auflage.
Urban & Schwarzenberg München, 1981
- 65 HERMANN, B., MUELLER, W.
Die Therapie der chronischen Polyarthritits mit Cyclosporin A einem
neuen Immunsuppressivum. - Aktuelle Rheumatologie 173-183, 1979 -
- 66 HEYWORTH, M. F.
Clinical experience with antilymphocyte serum.
Immunol. Rev. 65, 79, 1982
- 67 HOITSMA, A. J., REEKER, P., KREEFTENBERG, J. G. et al.
Treatment of acute rejection of cadaveric renal allografts with
Rabbit Antilymphocyte Globulin.
Transplantation. Vol. 33, S. 12, 1982
- 68 HOMAN, W. P., FABRE, J. W., MORRIS, P. J.
Nature of the unresponsiveness induced by cyclosporin A in rats
bearing renal allografts.
Transplantation 28 : 439-441, 1979
- 69 HOMAN, W. P., FABRE, J. W., FRENCH, M. E., MILLARD, P. R., MORRIS, P. J.
Treatment of kidney-allograft rejection with cyclosporin A.
Lancet ii : 421, 1979
- 70 HOMAN, W. P., FABRE, J. F., MILLARD, P. E., MORRIS, P. J.
Interaction of CsA with antilymphocyte serum and with enhancing
serum for the suppression of renal allograft rejection in the rat.
Transplantation 29 : 219-222, 1980
- 71 HOMAN, W. P., FRENCH, M. E., FABRE, J. W., MILLARD, P., DENTON, T., MORRIS, P. J.
The interaction of cyclosporin A with other immunosuppressive
agents in dog recipients of renal allografts.
Transplant. Proc. 12 : 287-290, 1980
- 72 HOMAN, W. P., FRENCH, M. E., MILLARD, P. R., MORRIS, P. J.
A study of eleven drug regimes using cyclosporin A to suppress
renal allograft rejection in the dog.
Transplant. Proc., Vol. XIII, No 1, 397-401, 1981
- 73 HOMAN, W. P., FABRE, J. W., WILLIAMS, K. A., MILLARD, P. R., MORRIS, P. J.
Studies of the immunosuppressive properties of cyclosporin A
in rats receiving renal allografts.
Transplantation 29 : 361-366, 1980
- 74 IWASAKI, J., PORTER, K. A., AMEND, J., MARCHIORO, T., ZIHLKE, V., STARZL, T. E.
The preparation and testing of horse antidog and antihuman
antilymphoid plasma or serum and its protein fractions.
Surg. Gynec. Obstet. 124 : 1, 1967

- 75 JARCK,H.U.,BLOCK,T.,HAMMER,C.,BERNHEIM,C.
Immunosuppressive and nephrotoxic effects of cyclosporin A and ALG
in renal allotransplantation.
Surg. Forum 5, 35, 1983
- 76 JEEJEERHOY,H.F.
Inactivation of thymus and marrow-derived lymphocytes by hetero-
logous antilymphocyte serum (ALS).
Transplant.Proc. 3, 793, 1971
- 77 KAHAN,B.D.,VAN BUREN,C.T.,FLECHNER,S.M.,
Clinical experimental studies with CsA in renal transplantation.
Surgery 125, Vol. 97, No. 2, 1985
- 78 KAHAN,,B.D.,RIED,M.,NEWBURGER,J.
Pharmacokinetics of Csa in human renal transplantation.
Transplant.Proc. 15, 446-53, 1983
- 79 KELLER,E.,KELLER,H.J.,WYBITUL,K.,WILMS,H.,SCHOLLMEYER,P.
Cyclosporin-Kinetic und Blutspiegelverlauf in der frühen
postoperativen Phase nach Nierentransplantation.
Nieren- und Hochdruckkrankheiten, 11/84, S. 432-437
- 80 KEOWN,P.A.,STILLER,C.R.,LAUPACIS,A.L. et al.
The Effects and Sideeffects of Cyclosporine :
Relationship to Drug Pharmacokinetics.
Transplant.Proc., Vol. XIV, No. 4, 1982
- 81 KEOWN,R.H.,STILLER,C.R.,ULAN,R.A.,SINCLAIR,N.,WALL,W. et al.
Immunological and pharmacological monitoring in the clinical use of
cyclosporin A.
Lancet 1 : 686-9, 1981
- 82 KIRKMAN,R.L.,ARAUJO,J.L.,TILNEY,N.L. et al.
Treatment of acute allograft rejection with monoclonal
anti T-12 antibody.
Transplantation 36 : 620-626, 1983
- 83 LANCE,E.M.
Antilymphocyte serum : Mechanism of action.
Transplant.Proc. 4, 473,1972
- 84 LIGHT,J.A.,ALIGANI,M.Ř.,BIGGERS,J.A.,ODDENINO,K.,REINMUTH,B.
ALG reverses "Irreversible" Allograft Rejection.
Transplant.Proc. Vol. XIII, No. 1, 1981
- 85 LICH-GREGOIR,W.
L'anastomose uretero-vesical laterale.
Acta Urol. Belg. 25, 4, 1957
- 86 MONACO,A.P.,CAMPION,I.P.,KAPNIK,S.J.
Clinical use of antilymphocyte globulin.
Transplant.Proc. 9, 1007, 1977

- 87 MERCK, E.
Klinisches Labor der medizinisch-chemischen Untersuchungsmethoden.
E. Merck, Darmstadt, 11. Aufl., 1970
- 88 MORRIS, P. J.
The Immunology of Rejection.
Kidney Transplantation, 2nd Edn., Grune & Stratton Ltd., 15-32, 1984
- 89 MUELLER, W., HERMAN, B.
Cyclosporin A for psoriasis.
New England Journal of Medicine 301 : 555, 1979
- 90 NARAJAN, J. S., STRAND, M., SUTHERLAND, D. E. R. et al.
Comparison of Cyclosporin versus Azathioprine-Antilymphocyte
Globulin in renal transplantation.
Transplant. Proc. 15 (suppl) : 2782-9, 1983
- 91 PASTERNAK, A.
Fine needle aspirations biopsy of human renal allografts.
Lancet 2, 82, 1968
- 92 PASTERNAK, A., VIROLAINEN, M., HÄYRY, P.
Fine needle aspirations biopsy in the diagnosis of human renal
allograft rejection. - J. Urol. 109, 167, 1973 -
- 93 PETCHER, T. J., WERER, H. P., RUEGGER, A.
Crystal and molecular structure of an iodo-derivative of the cyclic
undecapeptide cyclosporin A.
Helvetica Chimica Acta 59 : 1480-1488, 1976
- 94 PICHLMAYR, R.
Herstellung und Wirkung heterologer Antihundelymphozytenserum.
Z. ges. exp. Med. 143, 161, 1967
- 95 PICHLMAYR, R., BRENDL, W., ZENKER, R.
Production and effect of heterologous anticanine lymphocyte serum.
Surgery 61, 774, 1967
- 96 PIELSTICKER, K.
Habilitationssarbeit 1973
- 97 POWLES, R. L., CLINK, H. M., SPENCE, D., MORGENSTERN, C., et al.
Prevention of graft-versus-host disease following allogeneic bone
marrow transplantation in man using cyclosporin A.
Lancet i : 327-329, 1980
- 98 POWLES, R. L., BARRETT, A. J., CLINK, H., KAY, H. E. M., SLOANE, I. et al.
CsA for the treatment of graft-versus-host disease in man.
Lancet ii : 1327-1331, 1978
- 99 RAPAPORT, F. T., BACHVAROFF, R. J., AKTYAMA, N., SATO, T., FERREBE, J. M.
Specific allogeneic unresponsiveness in irradiated dogs
reconstituted with autologous bone marrow.
Transplantation 30 : 23-30, 1980

- 100 RETTZ,B.,BIEBER,C.P.,RANEY,A.A.,PENNOCK,J.D.,JAMIESON,S.W.,
OVER,P.E.,STINSON,E.R.
Orthotopic heart and lung transplantation with cyclosporin A immune
suppression.
Transplant.Proc. 13 : 393-396, 1981
- 101 REVILLARD,J.P.,BROCHIER,J.
Selective deficiency of cell-mediated immunity in humans treated
with antilymphocyte globulins.
Transplant.Proc. 3 : 725, 1971
- 102 RIED,M.,GIBBONS,S.,KWOK,D.,vanBUREN,C.,FLECHNER,S.,KAHAN,B.D.
Cyclosporine levels in human tissues of patients treated for one
week to one year.
Transplant.Proc. 15 (suppl) : 2434-7, 1983
- 103 ROGERS,A.I.,KAHAN,B.D.
Mechanism of action and clinical applications of Cyclosporin in
organ transplantation.
Clinics in Immunology and Allergy, Vol. 4, No. 2, 32, 1984
- 104 RUBINSTEIN,P.,MORGADO,F.,BLUMENSTOCK,A.,FERREBEE,J.W.
Isohemagglutinins and histocompatibility in the dogs.
Transplantation Vol. 9 : 961, 1968
- 105 RÜEGGER,A.,KUHN,M.,LICHTI,H.,LOOSLY,H.R.,HUGUENIN,R.,
QUIQUEREZ,C.,VON WARTBURG,A.
Cyclosporin A, a peptide metabolite from Trichoderma Rifai, with
remarkable immunosuppressive activity.
Helvetica Chemica Acta 59 : 1075-1092, 1976
- 106 SANDOZ
Atlas of Haematology
Sandoz AG Basel, 2nd Edit., 1973
- 107 SCHLIMGEN,R.,MÜLLER,E.G.,KALF,G.
Infusion, Transfusion, enterale and parenterale Ernährung.
perimed-Fachbuch 1981
- 108 SELL,S.
Immunologie, Immunpathologie und Immunität.
Verlag Chemie, 1977
- 109 SHEIL,A.G.R.,MEARS,D.,KELLY,G.E.,STEWART,J.H.,JOHNSON,J.R.,
A controlled trial of antilymphocyte globulin therapy in man.
Transplant.Proc. 4 : 501, 1972
- 110 SIEGENTHALER,W.
Klinische Pathophysiologie
3. Aufl., G.Thieme Verlag, 1976
- 111 SIMMS,M.H.,CRUICKSHANK,J.K.,CAMERON,A.H.,BARNES,A.D.
Effects of cyclosporin A in rat kidney grafts.
Transplant.Proc. 12 : 256-260, 1980

- 112 SLAWIN, S., STROBER, S., KAPLAN, H.S.
Long-term survival of skin allografts in mice treated with
fractionated total lymphoid irradiation.
Science 192 : 1252, 1976
- 113 SPIGOS, D., CAPEK, V., JONASSON, O.
Percutaneous biopsy of renal transplants using ultrasonographic
guidance.
I. Urol. 117 : 699, 1977
- 114 STARZL, T.E., WEILL, R., IWATSUKI, S., KLINTMAL, G. et al.
The use of CyA and prednisone in cadaver kidney transplantation.
Surg. Gynecol. obstet. 151 : 17-26, 1980
- 115 STEINMÜLLER, D., HART, E.A.
Transplant. Proc. 3, Suppl. 1, 675
- 116 STROM, T.B.
Immunosuppressive agents in renal transplantation.
Kidney International, Vol. 25 : 353-365, 1984
- 117 TAYLOR, H.E., ACKMAN, C.F.D., HOROWITZ, I.
Canadian clinical trial of antilymphocyte globulin in human cadaver
renal transplantation.
CMA Journal, Vol. 115, 1205, 1976
- 118 THIEL, G., HARDER, F., LÖRTSCHER, R.
Cyclosporin A Used Alone or in Combination with Low-Dose Steroids
in Cadaveric Renal Transplantation.
Klin. Wochenschrift 61 : 991-1000, 1983
- 119 TILNEY, N.L., GAROVY, M., STROM, T.B., GRAVES, M.J., CARPENTER, C.B.
Rejected human renal allografts. Recovery and characteristics of
infiltrating cells and antibody.
Transplantation Vol 28 : No. 5, 421-426, 1979
- 110 TING, A., MORRIS, P.J.
A powerful effect of HLA-DR matching on survival of
cadaveric renal allografts.
Lancet 2 : 282-285, 1980
- 120 TOURATNE, J.L., MALTK, M.C., TRAEGER, J.
ALG and thoracic duct drainage in renal transplantation.
In : SALAMAN, J.R. : Immunosuppression, S. 60
MTP Press limited, Lancaster 1981
- 121 TRAEGER, J., TOURATNE, J.L., FITES, D., BERTHOUX, F.
Evaluation of intravenous route for administration of
antilymphocyte globulin in humans.
Transplant. Proc. 3 : 749, 1971
- 122 TUTSCHKA, P., BESCHORNER, W., ALLISON, A.C., BURNES, W.H., SANTOS, G.W.
Use of CsA in allogeneic bone marrow transplantation in the rat.
Nature 280 : 148-151, 1979

- 124 ULDALL,R.,TAYLOR,R.,SMTNNEY,I.
Cyclophosphamide in human organ tranplantation.
Lancet 2 : 258, 1971
- 125 VRIESENDORP,H.M.,ALBERT,E.D.,TEMPLETON,I.W. et al.
Joint report of the second international workshop of canine
immunogenetics.
Transplant.Proc. 8 : 289, 1976
- 126 WENGER,R.
Synthesis of cyclosporine and analogous : Structure, activity,
relationship of new cyclosporine derivatives.
Transplant.Proc. 15 (suppl) : 2230-2241, 1983
- 127 WHITE,D.J.G.
Cycosporin A
Elsevier Biomedical Press, Cambridge 1982
- 128 WILLEBRAND,v.E.
Fine needle aspirations cytology of human renal transplants.
Clin. Immunol. Immunopath. 17 : 309, 1980
- 129 WOODRUFF,M.F.A.,ANDERSON,M.F.
Effect of lymphocyte depletion by thoracic duct fistula and admi-
nistration of lymphocytic serum on the survival of skin homografts
in rats.
Nature (London), 200 : 702, 1963
- 130 WOODRUFF,M.F.A.
Antilymphocytic serum and its mode of action.
Transplant.Proc. 3 : 34, 1971
- 131 WOODRUFF,M.F.A.,REID,B.,JAMES,K.
Effect of antilymphocytic antibody and fragments on human
lymphocytes in vitro.
Nature (London), 215 : 591, 1967
- 132 ZOLLINGER,H.U.,MIHATSCH,M.J.
Renal pathology in biopsy, S. 4, 565
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York, 1978
- 133 ZUKOSKI,C.F.,CALLAWAY,J.M.,Rhea WG Jr.
Prolonged acceptance of a canine renal allograft achieved with
prednisone.
Transplantation 3 : 380, 1965

8 ANHANG

Herrn Professor Dr. Dr. h. c. W. Brendel danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes im Institut für chirurgische Forschung, für seine Ratschläge sowie für das gute Arbeitsklima.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Professor Dr. Dr. C. Hammer für die Einführung in die theoretischen und praktischen Grundlagen der Immunologie sowie für tägliche Unterstützung und Ansporn während der ganzen Arbeit. Seine offene Art und das mir entgegen gebrachte Vertrauen prägten unsere ebenso erfreuliche wie ergiebige Zusammenarbeit und bildeten die Grundlage für außerordentlich selbstständiges wissenschaftliches Arbeiten.

Herrn Professor Dr. M. Gokel danke ich für die Untersuchung und Beurteilung der histologischen Präparate.

Für ihre Hilfsbereitschaft danke ich allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes; insbesondere Fr. C. Csapo und Fr. A. Allmeling für technische Unterstützung im immunologischen Labor, Fr. G. Höbel für die Anfertigung meiner Bilder und Dias sowie Herrn O. Frisch, Ehepaar Kufner und Kollegen für die Pflege unserer Versuchstiere.

Die mit Hilfe von CAD (Computer Added Design) erstellten Kurven in der vorliegenden Promotionsarbeit verdanke ich der fachkundigen Hilfe meines Freundes Arno Thiel.

Meinem Freund und Kollegen, Dr. Thomas Block, danke ich für zuverlässige und konstruktiv kritische Zusammenarbeit bei Planung und Durchführung aller Versuche im Modell "Feinnadelaspirationszytologie bei Hundenieren-allotransplantaten".

Ganz besonderer Dank gilt meiner Frau für ihre Geduld während dieser zeitintensiven Arbeit und für die Ausführung aller Schreibarbeiten.

9

L E B E N S L A U F

- 10.7.1956 geboren in Göttingen als Sohn des Tierarztes Dr. Arnold Jarck und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Seippel, Dipl. Bibliothekarin
- 1963-1967 Besuch der Volksschule in Neheim-Hüsten
- 1967-1975 Besuch des mathematisch-naturwissenschaftlichen Franz-Stock-Gymnasiums in Neheim-Hüsten
- 1975 Abitur in Neheim-Hüsten
- Okt. 1975 - Studium der Physik an der Georg-August-Universität in
Jan. 1978 Göttingen
- 1977 2-monatiges Krankenpflegepraktikum am St. Johannes Hospital in Neheim-Hüsten
- Jan. 1978 Beginn des Medizinstudiums an der Ludwig-Maximilians-Universität in München
- März 1979 Ärztliche Vorprüfung
- Okt. 1979 Famulatur in internistischer Gemeinschaftspraxis in Emden
- März 1980 Beginn der Promotions- und Mitarbeit am Institut für Chirurgische Forschung der Ludwig-Maximilians-Universität (Direktor: Herr Prof. Dr. Dr. h. c. W. Brendel) unter Leitung des Herrn Prof. Dr. Dr. C. Hammer.
- Sept. 1981 Famulatur bei einem Praktischen Arzt in Kirchheim

- Aug./Sept. 1982 Famulatur und Mitarbeit im "Department of Surgery and Transplantation, University Hospital of Wisconsin" in USA , auf Einladung der Herren Prof. Dr. Beltzer und Prof. Dr. Sollinger
- Nov. 1982 Beginn der Weiterbildung im Bereich Sportmedizin
- März 1983 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
- 1983-1984 Praktisches Jahr
Orthopädie-Klinikum Großhadern, Innere Medizin-KKH
Starnberg, Chirurgie-Chirurgische Klinik Innenstadt
- Okt. 1984 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
- Nov. 1984 Approbation als Arzt
- Dez. 1984 Eheschließung mit meiner Frau Beatrix, geb. Hagn, Sozialarbeiterin
- Jan. 1985 - Grundwehrdienst als Stabsarzt der Luftwaffe im
März 1986 Fliegerhorst Fürstenfeldbruck
In dieser Zeit u.a. Kleiner Fliegerarztlehrgang,
Tätigkeit als Fliegerarzt, Intubationslehrgang im
Bundeswehrkrankenhaus München
- Apr. 1986 Beginn der Weiterbildung im Gebiet Radiologie im KKH
Neumarkt, bei Chefarzt Dr. R. Mayer

